

Untersuchungen über die Wirkung
der fettlöslichen Vitamine A, D und E
auf das
Hypophysen-Nebennierenrinden-System

Paul Maurus

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG DER FETTLÖSLICHEN
VITAMINE A, D UND E AUF DAS
HYPOPHYSEN-NEBENNIERENRINDEN-SYSTEM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Paul Maurus
Veterinärpraktikant
aus
München

München 1959



5349/60

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Zipf

Referent: Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann

Tag der Promotion: 28. Juli 1959

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Vorbemerkung	1
II. Einleitung	2
1. Allgemeines über das Hypophysenvorderlappen- Nebennierenrinden-System (HVL - NNR - System)	2
2. Zur Wirkungsweise des Vitamins A	4
3. Endokrine Korrelation des Vitamins A unter beson- derer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems	6
4. Zur Wirkungsweise des Vitamins D	8
5. Endokrine Korrelation des Vitamins D unter beson- derer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems	11
6. Zur Wirkungsweise des Vitamins E	13
7. Endokrine Korrelation des Vitamins E unter beson- derer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems	22
III. Methodik	28
1. Versuchstiermaterial, Haltung und Fütterung	28
2. Histologische Aufarbeitung	31
3. Technik der karyometrischen Auswertung	32
4. Rechnerische Auswertungen	33
IV. Versuche und Ergebnisse	35
1. Methodische Vorversuche	35
2. Versuche mit Vitamin A	36
3. Versuche mit Vitamin D	43
4. Versuche mit Vitamin E	48
V. Diskussion	50
VI. Zusammenfassung	52
VII. Literaturverzeichnis	53
Lebenslauf	58



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. VORBEMERKUNG

Die fettlöslichen Vitamine A, D und E finden heute in großem Umfange Anwendung in Therapie und Ernährung unserer Haustiere.

Mangelnde Kenntnisse über die spezifische biochemische Wirkungsweise stehen dabei in Einklang mit einem breiten, z. T. sehr unspezifischen Indikationsgebiet. Das gilt insbesondere für die Vitamine A und E, für die Effekte mit sehr hohen Dosierungen nicht nur im Sinne einer Vitaminwirkung (d.h. Behebung eines spezifischen Mangelzustandes), sondern auch in pharmakodynamischer Beziehung diskutiert werden.

Im Rahmen der im Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere der Universität durchgeführten Studien über den Einfluß von Wirkstoffen auf endokrine Systeme wurde mir die Aufgabe gestellt, Untersuchungen über die Adaptation des Hypophysenvorderlappen- Nebennierenrinden-Systems nach Gaben der genannten Vitamine anzustellen.

II. EINLEITUNG

1. Allgemeines über das Hypophysenvorderlappen-Nebennierenrinden-System (HVL - NNR - System)

Die Rinde unterscheidet sich morphologisch deutlich vom Mark der Nebenniere (NN).

Das Rindenparenchym zeigt eine typische Zonierung und zwar liegen direkt unter der Kapsel die relativ schmale Zona glomerulosa und daran anschließend, bei der Ratte (unserem Versuchstier) durch einige Reihen von sogenannten Spindelzellen deutlich abgegrenzt, die Zona fasciculata, die den größten Teil der Rindensubstanz beansprucht. In einem mehr fließenden Übergang reiht sich zentralwärts die Zona reticularis an.

Die Zellen der Fasciculata werden als die Hauptbildungsstellen der Rindenhormone (Corticoide) angesehen. Diese Wirkstoffe, die ihrer chemischen Struktur nach Steroide sind, können nach ihrem biologischen Wirkungsoptimum in die Gruppen der Mineralo-, der Glucocorticoide und der sexogenen Rindenhormone eingeteilt werden. Sie sind an der endokrinen Steuerung des Stoffwechsels beteiligt.

Die NNR allein erhält durch laufende, gleichbleibende Abgabe von Rindenhormonen den Organismus lebensfähig, aber nicht lebensstüchtig. Erst die Steuerung durch die Hypophyse ermöglicht die funktionelle Anpassung an die jeweiligen Anforderungen.

Die Hypophyse (H) als zentrale Schaltstelle im Endokrinium produziert in ihrem Vorderlappen (HVL) u. a. das adrenocorticotrope Hormon (ACTH). Dieses im Bedarfsfall ausgeschüttet beschleunigt durch seine katalytische Wirkung die Bildung von Rindenhormonen (1), während ein Nachlassen der ACTH-Abgabe eine Verlangsamung der Produktion verursacht. Die physiologische Regulation der ACTH-Ausschüttung geschieht durch Rückwirkung des Corticoidblutspiegels (2).

Besondere Anforderungen, die dem Organismus z.B. durch Nahrungsmangel, Anstrengungen, Beschädigungen, Fremd- oder Giftstoffe, Temperatureinflüsse und Strahlen gestellt werden, belasten den Stoffwechsel und haben einen Mehrbedarf an Corticoiden zur Folge. Solche Belastungen wirken als unspezifische Reize (Stress), die die Reaktion des HVL-NNR-Systems auslösen. SELYE (3) bezeichnet die Wechselwirkung von Stress und HVL-NNR-System als das allgemeine Adaptationssyndrom. Im Ablauf der Reaktion unterscheidet er drei Phasen, näm-

lich die Alarmreaktion, die Resistenzphase und das Erschöpfungsstadium (4). Die Eigenart der Stoffwechselbelastung ist dabei von der Art des Reizes bezüglich Stärke, Dauer und der Intensität des Einsetzens abhängig.

SAYERS und SAYERS (5) unterscheiden folgende Möglichkeiten:

Akute Reize:

- a) Ein kurzer, zeitlich begrenzter Stress hat einen erhöhten Bedarf an Rindenhormonen zur Folge, was wiederum zu einem Anstieg der Rindenaktivität führt.

Chronische Reize:

- b) Eine allmähliche Veränderung der inneren und äußeren Gegebenheiten des Organismus führt zu einem langsam ansteigenden Bedarf an NNR-Hormonen, der eine ganz allmählich sich steigernde Rindenaktivität bedingt.
- c) Ein starker, bis zum Tod des Tieres anhaltender Stress verursacht einen großen, ständigen Bedarf an Rindenhormonen, der durch entsprechende Rindenaktivität zu decken versucht wird.

Die Beeinflussung des HVL - NNR - Systems läßt sich aus der Aktivität ersehen.

Über die Möglichkeit, diese Aktivität an den Auswirkungen auf Stoffwechselvorgänge klinisch zu testen, siehe bei BAHNER (6).

An der Nebenniere äußert sich die Funktionssteigerung in einem vermehrten Verbrauch des in den Parenchymzellen aufgestapelten, zur Hormonbildung notwendigen Ausgangsmaterials. Dabei ist die sich abspielende Dynamik chemischer Konstituenten nicht ohne Wirkung auf die Strukturen. Es handelt sich also um morphokinetische Reaktionen (= Folgeerscheinungen eines veränderten Zellchemismus) (4).

Zur Hormonbildung notwendiges Material (Lipoide) kann histochemisch nachgewiesen werden. BACHMANN (4) spricht von dessen Abnahme im Parenchym als Diaprasie, von dessen Zunahme als Enchosis.

Einflüsse auf die morphologischen Voraussetzungen der Hormonproduktion können histologisch durch Vermehrung und Verringerung bzw. Vergrößerung und Verkleinerung von Zellen in bestimmten Bereichen, die letzten Endes zu einer Größen- und Gewichtsänderung der NN führen, nachgewiesen werden. Aus den Versuchen von SAYERS ist zu entnehmen, daß die Beantwortung eines akuten Reizes - also die Entstehung einer raschen, sich langsam wieder behebenden

Diaprasie - keine Größenänderung der NN zur Folge hat. Chronische Reize führen aber in der Regel zu Größenänderungen der NN. Im Falle des plötzlichen, starken Auftretens eines Insultes kommt es zur schnellen und konstant zunehmenden Diaprasie.

Die morphologisch faßbaren Änderungen in der Produktionskapazität der NNR äußern sich in der Größe des Anteils der Fasciculata am Gesamtparenchym, die durch Umbauvorgänge in einem, bei Ratten in zwei Bereichen, bedingt wird.

TONUTTI (7) konnte im äußeren Rindenbereich der Zona fasciculata am Übergang zur Glomerulosa und im inneren Rindenbereich in der Übergangszone von Fasciculata zu Reticularis synchron und gleichsinnig verlaufende Zellkernvolumenschwankungen feststellen. Er bezeichnet diese Regionen als äußeres und inneres Transformationsfeld. Der darin stattfindende morphokinetische Umbau wird, wenn er durch Kernvergrößerung zur Ausweitung führt, als progressive Transformation, bei Schrumpfung als regressive Transformation bezeichnet.

Von den Größenschwankungen der Zellkerne im Transformationsfeld ausgehend konnten BOGUTH, LANGENDORFF und TONUTTI (8) ein brauchbares Verfahren zur quantitativen Ermittlung von Progressions- und Regressionsvorgängen in der NNR ausarbeiten. Bei graphischer Darstellung der Häufigkeitsverteilung der Zellkerne nach der Größe in Kurven konnten sie eine Linksverschiebung der Kurve, also eine Verkleinerung des durchschnittlichen Kernvolumens, als Ausdruck der Regression ansehen, eine Rechtsverschiebung, entsprechend einer Vergrößerung des Mittelwerts, als Ausdruck einer Progression interpretieren.

Mit Hilfe dieser, von der TONUTTI-Schule ausgebauten histometrischen Methode zur quantitativen Erfassung von NNR-Strukturänderungen, wurden bereits im hiesigen Institut physiologische Fragestellungen angegangen (9, 10).

Auch in der vorliegenden Arbeit sollten karyometrische Untersuchungen an Rattennebennieren als Kriterien für den Einfluß der fettlöslichen Vitamine auf das HVL - NNR - System dienen (siehe methodischer Teil).

2. Zur Wirkungsweise des Vitamins A

Vitamin A ist ein azyklischer Polylenalkohol, der sich vom β -Carotin ableitet.

Die Pflanze liefert Vitamin A in Form der Provitamine (Carotine), woraus der Körper der meisten Tiere und des Menschen Vitamin A bilden kann. Omnivoren

und Karnivoren nehmen natürlicherweise Vitamin A auch direkt mit dem Futter auf, wenn dieses aus tierischen Produkten besteht,

Als Internationale Einheit (IE) wurden $0,6 \mu\beta\text{-Carotin} = 0,3 \mu\text{Vitamin A}$ definiert.

Für die Umwandlung der Carotinoide in Vitamin A, die unter Mitwirkung des Ferments Carotinase vor sich geht, ist das Schilddrüsenhormon Thyroxin notwendig (11).

Über die Wirkungsweise des Vitamins A im Zellstoffwechsel wird angenommen, daß es beim Kohlehydratstoffwechsel, bei der Umwandlung von Kohlehydraten in Fett, bei der Fettresorption und bei der Fettsynthese nach der Verdauung eine Rolle spielt, vermutlich auch bei der Zellvermehrung (12) und damit beim Wachstum.

Vitamin A steigert im Organismus den Lipoidspiegel des Serums, insbesondere den des Cholesterins (13).

Vitamin A übt mit großer Wahrscheinlichkeit einen Einfluß auf den Nucleinsäurestoffwechsel in den Zellen aus (14, 15).

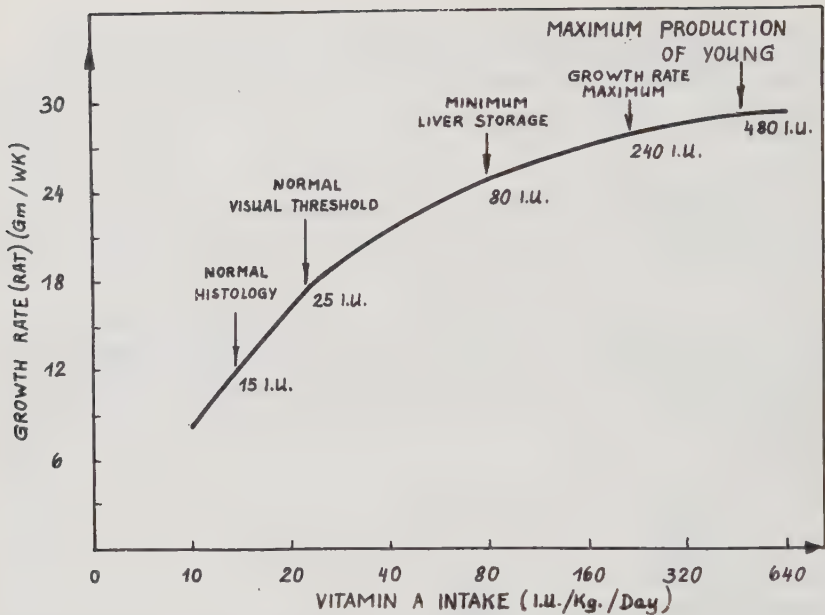
Durch Versuche mit embryonalen Knochen von Mäusen und Hühnchen in Gewebeskulturen wurde eine direkte Wirkung des Vitamins A auf die Zellen ermittelt.

Vitamin A-Mangel führt zu einer ausgesprochenen Systemerkrankung, da das ganze Ektoderm und die von ihm abstammenden Gebilde betroffen werden (16). Es kommt dabei zu Sehstörungen, typischen Augen- und Hauterkrankungen, ferner zu Schädigungen im Bereich des Verdauungstraktes, der Atemwege, des Urogenitalapparates, der Sexualdrüsen (Keimepithelschädigungen bei männlichen Tieren), in der Schmelzbildung der Zähne, im Knochenwachstum und im zentralen Nervensystem.

Vitamin A-Mangel bei Gravidität kann Mißbildungen und verminderte Lebensfähigkeit der Jungtiere bedingen und während der Aufzucht zum Sistieren des Längenwachstums und der Gewichtszunahme führen.

Bei der Ratte wurde eine Hyperplasie des retikuloendothelialen Systems beobachtet.

Zusammenhänge zwischen Vitamin A-Dosierung und nutritivem bzw. physiologischem Effekt gehen sehr augenscheinlich aus der Illustration von BESSEY hervor. Wir haben sie in Anlehnung an WILLIAMS (17) in Abb. 1 wiedergegeben.



Vitamin A-Hypervitaminose lässt sich experimentell nur mit sehr hohen Dosen erzeugen und Anzeichen davon wurden beim Menschen nach Genuß von Eisbärenleber beobachtet (18). Im Tierversuch kommt es zu toxischen Degenerationen an verschiedenen Organen, osteoporotischen Prozessen, Hypertrophie der Schilddrüse, zum Wachstumsstillstand, Gewichtsverlust und Haar- ausfall und schließlich zum Tod.

Bei Ratten sollen 50 - 100 IE / g KG täglich zu toxischen Erscheinungen führen.

- 37 - 135 E/g KG täglich sollen leichte toxische Erscheinungen,
- 200 - 500 E/g KG deutliche klinische Symptome hervorrufen und
- 800 E/g KG für die Dauer von 9 - 30 Tagen tödlich wirken (19).

3. Endokrine Korrelation des Vitamins A unter besonderer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems

In der Hypophyse wurde bei Untersuchungen an Schlachttieren weder beim Rind (20) noch beim Schwein (21) ein Gehalt an Vitamin A festgestellt.

Die Hypophysen A-avitaminotischer Ratten sind vergrößert und haben einen

höheren Gehalt an thyreotropem Hormon (22), wobei Änderungen in der morphologischen Struktur nicht nachgewiesen werden konnten. Es soll bei Vitamin A-Mangel zu einer gesteigerten Produktion von thyreotropem Hormon im HVL kommen, während vermehrte Zufuhr von Vitamin A die Bildung von thyreotropem Hormon hemmen soll (23).

Die Schilddrüse beeinflußt die NNR über den HVL (23). Zwischen Thyroxin und Vitamin A besteht ein Antagonismus, da Thyroxin die anabole Wirkung des Vitamins A in physiologischen und therapeutischen Dosen aufhebt und dessen Speicherung in der Leber hemmt; umgekehrt mildert Vitamin A die Thyroxinvergiftung (24).

Es besteht die Vermutung, daß durch das Fehlen des Vitamins A eine Hyperthyreose entsteht, die eine vermehrte NN-Aktivität zur Folge hat (25). Diese Rindenaktivität beruht auf Beobachtung der Schwankungen im Ascorbinsäuregehalt und Gewichtszunahmen der NN (26). Letztere konnten nicht immer festgestellt werden (26).

Bei Hypervitaminose A treten toxische Erscheinungen schneller und schwerer bei NN-losen Ratten auf. Die Überlebenszeit konnte durch Cortisongaben verlängert werden (27).

Während bei Thyreoidektomie und auch bei experimentell erzeugten Hypothyreosen die NN eine Funktionshemmung aufweisen (28), kommt es bei Hypervitaminose A zu keiner Gewichtsabnahme der NN (23), von anderer Seite (26) wurde sogar eine Zunahme beobachtet. Hohe Dosen Vitamin A sollen zu einer Vergrößerung der NNR (26) führen.

Die NN enthalten normalerweise Vitamin A (29) und vermögen bei Zufuhr größerer Mengen beträchtliche Quanten des Vitamins aufzunehmen (30). Hohe Konzentrationen von Vitamin A finden sich in der NN nur in der Zona fasciculata der Rinde (31), die als besonders funktionsaktive Zone der Corticoidbildung angesehen wird (28, 32).

Bei Vitamin A-Mangel wurde in dieser Zone eine Entleerung des Phospholipoidgehalts beobachtet (33).

Versuche ergaben, daß Vitamin A, Vitamin E und Ascorbinsäure in vitro bei der Biosynthese von Rindenhormonen von Bedeutung sein können (29).

Histologische Untersuchungen zeigten, daß an den NN-Zellen Degenerationen sichtbar wurden und zwar bevor die Herabsetzung der Glykogenbildung eintritt. Das geschieht bereits in einem sehr frühen Mangelstadium, ehe sich die

Gewichtszunahme vermindert.

Die Autoren nehmen daher an, daß Vitamin A-Mangel zuerst zu einer Degeneration der oben beschriebenen Zellen führt und nur sekundär zu einer Herabsetzung der Glykogenbildung durch verminderte Produktion von Glucocorticoiden (34).

In unserem Institut hat mit der karyometrischen Technik, die auch für unsere Versuche angewandt wurde, STÖCKL (9) bereits einige Experimente mit Vitamin A angestellt. Die von ihm durchgeführten fünf Versuche mit Dosierungen zwischen 500 und 4 000 IE Vitamin A bei einer Zeitdauer von 4 - 16 Tagen, ergaben für die kurzdauernden Tests mit hoher Dosis leichte Regressionen, die jedoch vorläufig keine weitere Interpretation erlaubten. Diese Versuche sind durch die im Ergebnisteil dieser Arbeit niedergelegten Experimente weiter fortgeführt worden.

4. Zur Wirkungsweise des Vitamins D

Die D-Vitamine sind der chemischen Struktur nach Sterine, die im Aufbau der Seitenkette geringe Unterschiede zeigen. Diese entspricht beim Vitamin D₃ der des Cholesterins, beim Vitamin D₂ der des Ergosterins.

Die D-Vitamine entstehen aus ihren Provitaminen Ergosterin bzw. 7-Dehydrocholesterin durch photochemische Umwandlung unter Einwirkung ultravioletter Strahlen. Dieser Prozeß kann bei der Sontentrocknung von Pflanzen vorkommen, spielt sich aber auch im Körper in den oberen Hautschichten ab. Durch biologischen Test (35) wurde als eine Internationale Einheit (1 IE) 0,025 µ Vitamin D₂ krist. definiert. Mittlerweile wurde dieses Maß auch auf Vitamin D₃ krist. ausgedehnt.

Nicht nur der Gehalt des Futters und der Milch an Vitamin D verdient während der Aufzucht- und Leistungsperioden Beachtung, Vitamin D findet in Prophylaxe und Therapie besonders bei Jungtieren eine häufige Anwendung in hohen Dosen ("Vitamin - Stoß").

Die Wirkungen des Vitamins D sind vielfältig. Die umfangreiche Literatur erfuhr bei GRAB (36) Sichtung und Wertung.

Avitaminose D führt zu Knochenerkrankungen, die sich bei Jugendlichen als Rachitis, bei Erwachsenen als Osteomalazie äußern. Diese Erscheinungen führten zur Entdeckung des Vitamins und brachten ihm die Bezeichnung "antirachitisches Vitamin" ein.

Der bei Vitamin D-Mangel gestörte Stoffwechsel der Elemente Calcium und Phosphor wirkt sich nicht nur bei der Skelettverkalkung, sondern auch in der Muskulatur aus (36).

Die Zufuhr kleiner Mengen Vitamin D fördert die Retention von Calcium und Phosphat, nur wenig größere Mengen vermehren die Resorption von Calcium und wahrscheinlich sekundär auch die von Phosphat.

Somit liegt der erste Angriffspunkt von Vitamin D in der Schleimhaut des Darms und der Niere (36). Bei der Ratte ist bei 10 Einheiten Vitamin D die Calciumresorption maximal (36). Nach CARLSSON (37) hat Vitamin D bei einer Ca- und P- reichen Kost eine extraintestinale Wirkung.

Die Förderung der Mineralisierung von osteoidem Gewebe beginnt bei der rachitischen Ratte bereits bei kleinen, oral verabreichten Dosen von 0,5 Einheiten.

Dabei soll die Resorption durch Vitamin D mit Hilfe zusätzlicher Resorptions-einrichtungen (36) gesteigert werden. Die Mineralisierung des Skeletts wird einerseits durch vermehrte Calcium-Zufuhr und indirekt von Phosphat (36) begünstigt, zum anderen gelangen die resorbierten Knochenminerale - bereits komplex gebunden - auf dem Blutweg zu den Orten, an denen sich die Skelettmineralisation abspielt (36); nur ionisiertes Ca dient als "Funktions-Ca" und unterliegt der Steuerung durch die Epithelkörperchen.

Der Bedarf an Vitamin D unserer Haustiere ist schwer zu ermitteln, da die Verwertbarkeit beim bestehenden Mengenverhältnis der Mineralsalze zueinander, die im Futter enthalten sind, schwer zu bestimmen ist und der Vitamin D-Bestand aus zugeführten Provitaminen D bei ausreichender Besonnung vom Körper ergänzt werden kann (36, 38, 39, 40).

Die Verfahren zur Ermittlung des Vitamin D-Bedarfs werden bei GRAB (36) beschrieben.

Vitamin D vermag im Extremfall mangelnde Mineralstoffzufuhr nicht zu ersetzen, wohl aber deren Auswirkungen zu mildern. In solchen Fällen kommt es zur Ausbildung eines "schlanken Skeletts".

Weiterhin fördert Vitamin D das Wachstum.

Dieses hängt bei Jugendlichen von der Geschwindigkeit des Skelettwachstums ab, das durch Vitamin D gesteigert wird (36, 41). Darüber hinaus wirken die D-Vitamine auch auf das Körpergewebe junger Tiere und Säuglinge ein. An-

scheinend haben sie eine allgemeine Wirkung auf den Stoffwechsel (38).

Auswirkungen auf das Wachstum durch den Synergismus von Vitamin D und Zitronensäure werden ebenfalls berichtet (42). Der Wachstumseffekt des Vitamins D wird weiterhin durch Versuche von CAUSERET (43) wie auch von STEENBOCK und HERTING (41) bestätigt und von HOFFMANN (44) an Ferkeln sowie von NESENI (45), (46) an Schafen und Schweinen demonstriert.

Bei der Mineralisierung des Knochens werden nicht nur Mineralstoffe im Skelett abgelagert, sondern bereits verkalktes Gewebe wird unter Freisetzung von Calcium und Phosphat abgebaut. Dabei ist der Einfluß von Vitamin D auf die Phosphatasen (36) von Bedeutung. Die Erhöhung der Phosphatkonzentration durch vermehrte Rückresorption von Phosphat erfolgt durch die Niere bei hohen Vitamin D-Gaben.

Eine Steigerung der Vitamin D-Wirkungen durch wachsende Zufuhr über den physiologischen Bedarf hinaus führt zu Vergiftungen.

Diese treten dann auf, wenn die offenbar ans Alter gebundene Zerstörungsfähigkeit und das Ausscheidungsvermögen des Körpers gegenüber zu reichlicher Vitamin D-Zufuhr nicht mehr genügt oder auch toxische Beimengungen vorhanden sind. Nach ALBRIGHT (36) haben hohe Vitamin D-Dosen nachstehenden Reaktionsablauf zur Folge:

Der Calciumionengehalt im Serum wird über vermehrte Resorption von Ca und folgende Freisetzung durch vermehrten Abbau im Skelett erhöht (36, 47). Somit erfolgt zunächst eine Verminderung der Phosphatausscheidung im Harn durch Einschränkung der Epithelkörperchenaktivität.

Die Übersättigung des Bluts mit Phosphat führt zur Konkrementbildung von Calciumphosphat und Niederschlag an bevorzugten Stellen.

Bei Vitamin D-Gaben in toxischen Dosen, die ein Vielfaches über den therapeutischen liegen, wird der bei höheren Dosen veranlaßte Knochenumbau übersteigert und führt zur Entkalkung der Knochen; Knochenweichheit und Schmerzen verursachen dann den charakteristischen Gang der Tiere (36). Knochenveränderungen bei vitamin-D-vergifteten Ratten haben BRUNE und EGER (48) untersucht und getestet.

Für die toxische Wirkung des Vitamins D ist die Höhe der Dosis allein nicht entscheidend. Wirksamkeit und Giftigkeit des Vitamins D hängen davon ab, wie rasch es aufgenommen oder ausgeschieden, verteilt oder abgebaut wird und welche Konzentrationen an Vitamin D wirksam werden (36).

Die Ratte soll gegen Vitamin D-Vergiftung sehr widerstandsfähig sein; Unterschiede in der Giftigkeit des Vitamins D durch verschiedene Applikationsformen werden erst bei Dosen von 3, 2 mg / kg pro Tag sichtbar (49, 50).

Als sicherstes Zeichen einer Vitamin D-Vergiftung wertet GRAB (36) die Erhöhung der komplex gebundenen Ca im Blutserum über eine Grenze von 7, 5 mg / 100 cm³ beim Menschen. Bei hohen Dosen mehrte sich der Eiweißgehalt im Blutserum und ändert seine Zusammensetzung (36, 50).

Frühe Vergiftungserscheinungen sind renal bedingte Glykosurie, niedriges spezifisches Harngewicht oder Erythrozyten im Harn. Klinische Symptome sind der durch den dabei entstehenden Wasserbedarf auftretende Durst, wie Polyurie, Erbrechen, Diarrhoe, manchmal Obstipation. Mit der Störung des Eiweißstoffwechsels geht Appetitlosigkeit einher.

Von den Organen wird die Niere früh geschädigt (36). In der Niere traten nach Versuchen von GEBAUER und LYHS (35) an Ratte und Maus Kalkablagerungen bei 5 - 10 000 E Vitamin D regelmäßig auf. FROEHLICH (51) gab sehr jungen Ratten täglich 20 000 E, die zur Degeneration der Haut, besonders am Schädel, Verkalkung und Ausscheidung von Ca-Phosphat durch die Kopfhaut unter Bildung einer Schädelkappe von etwa 1 qcm Größe führten. Es bestand die Möglichkeit der vollständigen Erholung bei Unterbrechung der Verabreichung.

FEULON, PAULAIS (52) verabreichten auf zweimal 2 mg pro Woche an Albinoratten und stellten Gewichtsabnahme und Nierenverkalkung fest.

Bemerkenswert ist ferner, daß pathologische Kalkablagerungen bereits nach täglichen Gaben von 5 IE Vitamin D während 10 Tagen bei Verfütterung einer rachitogenen Kost in den Trachealknorpeln junger Albinoratten auftreten sollen (35). Diese Gaben von Vitamin D liegen nur wenige Einheiten über dem Mindestbedarf bei rachitogener Kost.

5. Endokrine Korrelation des Vitamins D unter besonderer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems

Die Wirkungen des Vitamins D auf Stoffwechselvorgänge bringen es auch in Beziehung zu innersekretorischen Drüsen (36, 38, 53, 54), wobei die Korrelationen zu den Epithelkörperchen im Zusammenhang mit der allgemeinen Wirkungsweise schon hervorgehoben wurden.

Histologisch erkennbare Veränderungen an der Hypophyse bei mit Vitamin D₃

vergifteten Ratten konnten von BRUNE und EGER (55) nicht festgestellt werden. Die Größenzunahme der NN war bei parathyreopriven Ratten wesentlich stärker ausgeprägt (55).

Durch Anregung der Schilddrüse über das thyreotrope Hormon der Hypophyse soll Vitamin D in hohen Dosen den Grundumsatz (36) steigern können; ebenso kann eine Schilddrüsenunterfunktion durch Vitamin D-Gaben behoben werden (55). Für die Beeinflussung des Phosphatspiegels bei rachitischen Ratten konnten Parallelen der Vitamin D- und der Schilddrüsenhormonwirkung aufgezeigt werden (56).

Besondere histologische Befunde an der Schilddrüse bei Vitamin D-Intoxikation bei Ratten konnten von BRUNE und EGER (55) nicht erhoben werden.

Die Hoden zeigten dabei eine Verkleinerung ohne wesentliche Schädigung; beim Hund vermindern aber hohe Dosen Vitamin D die Spermatogenese (36). Weibliche Keimdrüsen haben bei vermehrter Tätigkeit einen erhöhten Bedarf an Ca und Vitamin D.

Vitamin D-Mangel beeinflußt die Ovarialtätigkeit bei der Frau kaum, so wie hohe Dosen die Ovulation wenig beeinflussen (36).

Die Eiproduktion und Schlüpfähigkeit bei Truthühnern soll durch Vitamin D gefördert werden.

Die D-Vitamine weisen als Sterine eine chemische Strukturähnlichkeit mit den NNR-Hormonen auf (47).

Berichte über Auswirkungen der Avitaminose D an den NN scheinen nicht vorzuliegen.

HANSSLER (57) berichtete über den positiven Einfluß der NNR auf das Knochenwachstum vitamin-D-frei ernährter Ratten, LARON und Mitarbeiter (58) über die schadenmindernde Wirkung des Cortisons auf die Zähne rachitischer Ratten.

Bei Verabreichung hoher Dosen Vitamin D wurden Veränderungen an den NN bei Ratten festgestellt:

0,5 mg D₂ i.p. einmal injiziert vermochten die Eosinophilen im Blut auf die Hälfte zu senken (Thorntest) (36).

0,5 mg D₃ sieben Tage lang per os, also insgesamt 3,5 mg / Wch., führen zu einer deutlichen Vergrößerung der NN mit Zeichen der Aktivierung (36). 5 - 10 000 IE oral täglich mit Sonde verabreicht, haben eine dem Grad der Vergiftung entsprechende Größenzunahme der NN, bezogen auf das Körperge-

wicht, zur Folge (55). Der toxische Effekt großer Dosen von Vitamin D ist bei nebennierenlosen Tieren ausgeprägter als bei normalen (36).

Diese Befunde können als Anpassung der NN an einen unspezifischen Stress angesehen werden (36, 55).

Die Aktivierung der NN bei hohen Vitamin D-Gaben kann möglicherweise eine unter Umständen günstige therapeutische Wirkung des Vitamins D erklären (36).

6. Zur Wirkungsweise des Vitamins E

Vitamin E ist ein Hydrochinonderivat, das in der Natur in sieben verschiedenen Formen vorkommt, die als Tocopherole bezeichnet werden. Diese sind chemisch eng verwandt und unterscheiden sich vom α -Tocopherol, dem eigentlichen Vitamin E, durch Anzahl und Stellung der Methylgruppen am bicyklischen Grundskelett.

Gegen Hitze ist Vitamin E sehr widerstandsfähig, aber es kann in fein verteilter Form oder in Gegenwart geeigneter Katalysatoren leicht oxydiert werden. Durch Veresterung werden die Tocopherole stabiler.

Die Redoxeigenschaft des Vitamins wird für die vielfältige biologische Wirksamkeit verantwortlich gemacht.

Vitamin E wirkt als physiologisches Antioxydans und entfaltet eine synergistische Wirkung für verschiedene essentielle Nährstoffe; so erhöht es z.B. die Ausnützung der essentiellen Fettsäuren und verbessert die Resorption von Eisen (59). Darüber hinaus bestehen Beziehungen zwischen Vitamin E und Enzymsystemen. Dabei soll der Zellstoffwechsel insbesondere im Hinblick auf den Kohlehydrat-, Fett-, Mineral- und Wasserstoffwechsel beeinflusst werden. Für den Stoffwechsel der Nucleinsäuren (35, 60) wird eine essentielle Bedeutung des Vitamins E angenommen. Auch ist es bei der Synthese der Blutplasmaeiproteine des Kükens beteiligt (39).

Vitamin E ist unterschiedlich im Körper verteilt (38). Die höchste Konzentration weisen Hypophyse und NN auf (darin besteht eine auffallende Parallele zum Vitamin C, das ebenfalls als Redoxkörper wirksam ist), in hohen Konzentrationen ist es auch in den Mitochondrien der Herzmuskel- und Leberzellen enthalten (59).

Seine Speicherung erfolgt hauptsächlich im Fettgewebe.

Trotz des breiten Wirkungsspektrums des Tocopherols war sein Vitamincharakter umstritten (38), da seine physiologischen Wirkungen vielfach, wenn auch nur in ganz begrenztem Umfang, durch chemisch nicht verwandte Stoffe wahrgenommen werden können.

Neuerdings wurde postuliert, daß Vitamin E wahrscheinlich in die Zellatmung eingreift (59).

Es soll bei der Atmungskettenphosphorylierung katalytisch als Teil eines Enzyms wirken, das aktiv an der Übertragung der Energie von Cytochrom b nach Cytochrom c beteiligt ist (61, 62).

Avitaminose E kann experimentell erzeugt werden oder durch exogene und endogene Einflüsse zustande kommen. Die vielen Ursachen einer Avitaminose hat MOURIQUAND (63) allgemein unter den Gesichtspunkten Ektokarenz, Enterokarenz und Endokarenz geordnet.

Von TAGWERKER (59) wurden die Umstände, die bei Haustieren zu E-Mangel führen, dargelegt. So können entweder vitamin-E-armes Futter oder von Natur aus vitamin-E-reiche Futtermittel, die auf natürlichem Wege oder durch künstliche Be- und Verarbeitung an Vitamin E verarmt sind, zu einer unzureichenden Versorgung des Körpers führen.

Weiterhin können die Tocopherole in nicht aufschließbarer Form vorliegen, wie es sich beim Küken (59) gezeigt hat. Zugeführtes Vitamin E kann auch infolge gestörter Resorptionsvorgänge, z.B. durch mangelnde Galleabscheidung, nicht zur Verwertung gelangen. Im Körper vorhandenes Vitamin E kann seine physiologischen Aufgaben nicht wahrnehmen, wenn es durch Antagonisten wie Toxamine (nach RODICEK) (zit. bei 64) verbraucht wird.

Als solche kommen die aus der Fettverderbnis entstehenden Oxydationsprodukte der hochungesättigten Fettsäuren vor. Diese können eine doppelt schädliche Wirkung ausüben. Vitamin E wird nämlich einmal durch die im Futter ablaufenden Oxydationsprozesse zerstört, zum andern bei Entgiftung der Oxydationsprodukte im Körper verbraucht.

Hochungesättigte Fettsäuren kommen in Futtermitteln tierischer Herkunft wie Fischlebertran, Fisch- und Fleischmehle und in gewissen Pflanzen und Pflanzensamen vor.

Eine Gruppe weiterer noch unbekannter Toxamine ist in einer Anzahl eiweißhaltiger Futterpflanzen enthalten (59). Schließlich kann auch ein Mangel eintreten, wenn der Bedarf an Vitamin E durch ungewöhnliche Anforderungen

(Stress) so gesteigert wird, daß der vorhandene Bestand nicht mehr ausreicht (59).

Der notwendige Bedarf an Vitamin E ist auch in Abhängigkeit von den Beziehungen des Vitamins E zu anderen essentiellen Nährstoffen.

So fördert es die Resorption und Speicherung von Vitamin A, Carotin und anderen pigmentbildenden Carotinoiden.

Es ist anzunehmen, daß die Vitamin A-Vorräte des Körpers bei Vitamin E-Mangel ebenfalls erschöpft sind (65). Vitamin E ergänzt aber die Wirkung des Vitamins A im Eiweißstoffwechsel, was sich außer auf die Haut vor allem auf Leber, Hoden und Muskeln auswirkt (65).

Verschiedene Synergisten, das sind Stoffe, die entweder verbrauchte Antioxydantien zu reduzieren, bzw. Prooxydantien zu blockieren vermögen (66), können durch Vitamin E ersetzt werden, wie sie auch umgekehrt partielle Aufgaben des Vitamins E zu übernehmen vermögen. Dazu gehören Amine, schwefelhaltige Aminosäuren, Ascorbinsäure.

Auch auf verschiedene B-Vitamine, z.B. Biotin, wirkt Vitamin E synergistisch.

Ein nur in Abwesenheit von Vitamin E essentiell wirkendes Spurenelement ist Selen. Es ist im "Faktor 3" (67, 68) enthalten. Selen vermag die durch suboptimale Mengen Cystin und den gleichzeitigen Mangel an Vitamin E und Faktor 3 entstandene Lebernekrose bei Ratten (69) und Schweinen (70), multiple nekrotische Degenerationen von Herz, Leber, Niere und Muskeln bei Mäusen (71), exsudative Diathese beim Küken (72) zu vermindern und das Ausmaß von Muskeldegenerationen beim Küken zu beschränken (73). Möglicherweise ist Selen am intermediären Stoffwechsel durch Mitwirkung an Redoxreaktionen beteiligt (69).

Diese Stoffe vermögen damit in mancher Beziehung eine Schutz- und Sparwirkung auf das Vitamin E auszuüben, bei Fehlen jedoch die E-Mangelercheinungen zu verschärfen.

Erkenntnisse über die Vitamin E-Wirkungen ergeben sich aus Untersuchungen über Ausfallserscheinungen bei mit Sicherheit E-avitaminotisch gemachten Tieren. Im allgemeinen sind diese Experimente praktisch nur bei kleinen Versuchstieren möglich. Die Beurteilung der Vitamin E-Wirkung beim Nutztier dagegen gestaltet sich vielfach wesentlich schwieriger und unsicherer.

Zunächst kann die Hypovitaminose verschiedenen Grades und von unterschiedlicher Dauer sein und muß erst diagnostiziert werden. Ferner wird unter praktischen Fütterungs- und Haltungsbedingungen nicht nur ein Mangel an Vitamin E, sondern auch eine unzureichende Versorgung mit anderen Nährstoffen vorliegen. Die Ausfallserscheinungen können sich daher sehr unspezifisch äußern oder auch nur in latenter Form vorhanden sein. Die erfolgreichen therapeutischen Vitamin E-Gaben geben dann häufig allein Hinweise, wobei die Erklärung des Wirkungsmodus auf Analogieschlüssen beruht.

Auch ist der Bedarf an Vitamin E bei einzelnen Tierarten schwer zu ermitteln, da er aus oben geschilderten Gründen erheblichen individuellen Schwankungen unterliegt. Beim Menschen sind eigentliche Vitaminmangelerscheinungen noch nicht bekannt geworden (64). Ferner gestaltet sich der Nachweis der Vitamin E-Bilanz zumindest sehr schwierig, da die Blutwerte beim Menschen wie bei unseren Haustieren (74) keine einschneidende Bedeutung bei der Beurteilung des Vitamin E-Haushalts haben. Lediglich durch mehrmalige Blutuntersuchung auf Vitamin E bei demselben Tier wurden Schlüsse auf die Vitamin E-Versorgung bei Kälbern gezogen (75).

Der Zeitpunkt des Auftretens eines Vitamin E-Mangels ist auch von der Speicherkapazität des Organismus abhängig.

Zusammenfassend ergab sich, daß bei experimenteller E-Avitaminose im Vordergrund des Symptomenkomplexes bei der erwachsenen Ratte Fortpflanzungsstörungen, die nach dem Geschlecht verschieden geartet sind, bei Jungtieren neuromuskuläre Störungen, bei Kaninchen die Muskeldystrophie, beim Huhn Enzephalomalazie und beim Küken exsudative, hämorrhagische Diathese und Beinschwäche stehen.

Obwohl durch den Vitamin E-Mangel bedingt tierartlich zunächst verschiedene Krankheitsbilder mit unterschiedlicher Lokalisation der Schäden beobachtet werden, ergeben histologische und physiologische Untersuchungen (64) gemeinsame pathogenetische Ursachen, die durch die eingehende Darstellung von BECKMANN (64) über die Vitamin E-Wirkungen verständlich werden.

Nach MARTIN und FAUST (zit. in 64) gelten als hervorragendstes histologisches Zeichen einer vitamin-E-mangelbedingten Muskelschädigung hyaline oder Koagulationsnekrose des Protoplasmas.

Die fehlenden Vitamin E-Wirkungen bedingen Schädigung der Zellgrenzen, die zu einer Permeabilitätsstörung mit allen Konsequenzen führt, wie Schäden am Muskel- und Bindegewebe, am Gefäß- und Nervensystem. Vitamin E-Man-

gel verändert weiterhin die Zusammensetzung des Körperfetts und verursacht dessen Pigmentierung.

Die wichtigsten Befunde bei der E-avitaminotischen Ratte sieht BECKMANN (64) in Übereinstimmung mit TONUTTI und RUPPEL (zit. bei 64) in der "systemartigen Schädigung" der muskulären Elemente und zwar sowohl der Skelett- als auch der Herz- und glatten Muskulatur.

Ebenso steht nach MARKEES (zit. bei 64) die Muskeldystrophie im Vordergrund des Krankheitsbildes bei allen Versuchstieren.

Veränderungen an der glatten Muskulatur, die sich später zu Zerfallerscheinungen entwickeln, treten bei der Ratte zunächst am Uterus auf. Durch Schwund der in Wände und Septen eingelagerten Muskelfasern kommt es zu Organschädigungen, wie an Lunge und Niere.

Beim Geflügel werden Muskelmagen, Darm- und Atemmuskulatur betroffen.

Die Herzmuskulatur leidet bei allen Versuchstieren Schaden, nach neueren Befunden auch beim Kaninchen (64).

Gefäß- und Kapillarwandschädigungen sind letzten Endes Ursachen der Nervenschädigungen, die bei Ratten am Zentralnervensystem und am Rückenmark gefunden werden und auch sekundäre Myopathien verursachen können.

Kapillarblutungen und Oedembildungen führen beim Huhn zur Enzephalomalazie und exsudativen, hämorrhagischen Diathese. Als Antioxydant schützt Vitamin E das Körperfett vor Autoxysation. Es kommt bei E-Mangel durch pathologische Pigmenteinlagerung zur Gelbfärbung des Fettes bei Ratten und auch beim Geflügel.

Weiterhin treten bei der Ratte unter anderem Schleimhauthyperplasien, Gastritiden und Magenulcera auf. Auch Augenschädigungen, Zahnveränderungen, Verschwinden des braunen, eisenhaltigen Pigments aus dem Schmelz der Frontzähne wurden beobachtet.

Aus den vielfältigen Symptombildern bei Vitamin E-Mangel werden nun auch für die Haustiere folgende Indikationen für Vitamin E-Therapie gegeben (76):

Muskeldegenerationen, die außer Schwund der quergestreiften Muskulatur auch die Herzmuskulatur betreffen und zu Magennekrosen führen können; Schädigungen der Blutgefäße, die beim Geflügel zu Enzephalomalazie und exsudativer Diathese führen, Leberschäden (akute hämorrhagische Lebernekrosen, toxische Leberdystrophie) und Gelbfettkrankheit (76).

Vitamin E ist nach BECKMANN (64) eine weitgehend ungiftige Substanz. Bei Verwendung in hohen Dosen in der Humanmedizin sind jedoch Nebenerscheinungen bekannt geworden.

Bei der Behandlung der Induratio penis plastica kann bei ausgeprägten innersekretorischen Störungen die Libido verringert oder gänzlich aufgehoben und bei bereits bestehender Schädigung der Spermio-genese die Samen-fadenbildung weiterhin beeinträchtigt werden.

Ebenso soll beim Mann übergroße Zufuhr von Vitamin E Oligospermie und Azoospermie zur Folge haben.

Bei Frauen wurden Störungen der Ovarialtätigkeit durch Veränderung der Hormonwirkung, die vor allem bei jüngeren Frauen zu Zyklusstörungen und zur temporären Sterilität führen sollen, als Hypervitaminose gedeutet.

Es sind daher Bestrebungen vorhanden, die Vitamin E-Zufuhr zweckmäßig zu beschränken.

Im allgemeinen sind jedoch Hypervitaminosen beim Menschen ausgesprochen selten.

Die Zusammenhänge zwischen Vitamin E und Fertilität bedürfen, da sie in letzter Zeit zur Argumentation eines speziellen Indikationsgebietes auch bei Haustieren herausgestellt wurden, einer gesonderten Besprechung.

Einfluß des Vitamins E auf das Fortpflanzungsgeschehen:

Das Schrifttum über die Vitamin E-Wirkung auf die Fortpflanzung der Nutztiere enthält aufschlußreiche Beobachtungen, aber wenig exakte Befunde. Die sich aufdrängenden Vorbehalte sind an verschiedene Fragestellungen geknüpft, welche die Zusammenhänge zwischen den Ursachen der Störungen am Genitalsystem und der Höhe der zu ihrer Behebung erforderlichen Dosis an Vitamin E betreffen. Mengenmäßig nur geringe Dosen sind zur Behebung leichter subklinischer Funktionsstörungen, die auf einem relativen Mangel beruhen, notwendig (65). Eine pharmakodynamische Wirkung hoher Dosen an Vitamin E wird von anderer Seite (77) angenommen, da sich keine Wirkstoffverarmung des Organismus im Zusammenhang mit Sterilität bei Kühen nachweisen ließ.

Bei der Annahme eines Indikationsgebietes für Vitamin E bei der Sterilitätsbekämpfung kann auf Analogieschlüsse mit Unterlagen aus Labortierversuchen nicht verzichtet werden.

Männliche Tiere:

Es treten schwere und irreparable Hodenschädigungen bei der männlichen Ratte im frühen Stadium der E-Avitaminose ein, die mit dem Erlöschen jeglicher sexueller Funktionen, einem der Kastration ähnlichen Zustand, enden (64).

Die degenerativen Keimzellveränderungen sind - im Gegensatz zu denen im Hamster - nur in ihren Frühstadien rückbildungsfähig (64). Bereits 4 - 8 Wochen nach Beginn der vitamin-E-freien Ernährung finden sich degenerativ veränderte, nicht mehr befruchtungsfähige Spermatozoen. Später kommt es zu Azoospermie und Atrophie der Samenkanälchen; das Gewicht des Hodens beträgt dann nur noch $\frac{1}{3}$ des Gewichts beim gesunden Tier.

Bemerkenswert ist übrigens, daß die SERTOLI'schen Stützzellen, sowie die LEYDIG'schen Zwischenzellen als Bildungsstätten für das männliche Keimdrüsenhormon, lange Zeit durch den Vitamin E-Mangel keine nennenswerten Veränderungen erfahren.

Auch neuere Befunde ergaben (27), daß die interstitiellen Zellen über ein Jahr normal blieben oder eine leichte Hyperplasie zeigten. Es überrascht daher, daß es sich bei den so steril gewordenen Ratten funktionell um Kastraten handelt, wie das Aussehen des Felles bei jungen Tieren erkennen läßt. Auch scheiden Rattenmännchen, deren Spermaproduktion infolge Vitamin-E-Mangel eingestellt ist, wie die Kastraten vermehrt Kreatin im Urin aus (64).

Dieselben Erscheinungen zeigen auch Meerschweinchen (59).

Bei Vitamin E-Behandlung junger Kaninchen trat eine Verdoppelung des Hodengewichts und frühere Geschlechtsreife auf (78).

MASON (zit. bei 64) hat degenerative Veränderungen des Samenepithels nicht vor Eintritt der Geschlechtsreife bei Vitamin E-Mangel-Ratten beobachtet.

Nach MILLER und DESSERT (zit. bei 64) kommt es bei männlichen Vitamin-E-Mangeltieren zur Schädigung des Samenepithels durch überschüssige Hyaluronidase. Nach Eintritt der mit plötzlicher starker Vermehrung der Testishyaluronidase zusammenfallenden Geschlechtsreife fällt die Regulierung der Hyaluronidaseaktivität durch Vitamin E weg.

Dieselben Autoren (zit. bei 64) konnten ferner zeigen, daß Vitamin E auch

das Befruchtungsvermögen der Spermatozoen zu regulieren vermag.

LINDAHL und KIHLESTRÖM (zit. bei 64) fanden ein von der Prostata sezerniertes Proteid, das die Agglutination der Spermatozoenköpfe von Seiten des männlichen und weiblichen Genitalapparates verhindert und damit einen vermutlich wichtigen Fertilitätsfaktor darstellt.

1954 konnten diese Autoren weiterhin berichten, daß α -Tocopherol ein wirksamer Bestandteil dieses Anti-Agglutinins ist.

Veränderungen an den Geschlechtsorganen männlicher Haustiere infolge Vitamin E-Mangels wurden in Einzelfällen vermutet. Hodendegenerationen wurden bei jungen Schweinen, Kälbern, beim Hund und beim Hahn beschrieben (62).

Vermutlich auf Grund Vitamin E-Mangels von längerer Dauer wurde nicht infektiöse Sterilität bei Zuchtbullen beobachtet (62). Bei ungeklärter Vitamin E-Versorgungslage wurde durch Behandlung von Zuchthengsten und -bullen eine Steigerung des Zuchterfolgs und bei anderen eine Normalisierung bzw. Verbesserung der sexuellen Aktivität erzielt (62).

Eine Gabe von 100 IE Vitamin E an Bullen ergab für den Samen eine Erhöhung der Menge und Qualität und gewöhnlich Steigerung der Lebensfähigkeit (4).

Weibliche Tiere :

Die Veränderungen am Uterus vitamin-E-frei ernährter Ratten wurden von RUPPEL (zit. bei 64) sowie TONUTTI (zit. bei 64) histologisch untersucht und beschrieben.

Diese Uterusveränderungen, nämlich Pigmentierung, Fibrose und Resorptionssterilität sind jenen Phänomenen, die sich am Uterus der alternden Ratte ausbilden, auffallend ähnlich (1). Wie die Ratte zeigt auch die Maus eine Pigmentierung des Uterus, insbesondere auch Ödeme des subkutanen Gewebes und der Muskulatur (PAPPENHEIMER) (zit. bei 64).

Die Verabreichung einer Kombination von Vitamin A, E und C in hohen Dosen an E-avitaminotische Ratten ergab Wiederbehaarung, Anstieg des Uterusgewichtes und Rückgang der Pigmentierung, Effekte, die mit Vitamin C und A oder Vitamin C und E allein nicht erreicht werden konnten (76).

Die Fortpflanzungsstörungen bei der weiblichen Ratte bei Vitamin E-Mangel sind durch Veränderungen am Uterus bedingt, die Ovarialfunktion ist nicht beeinträchtigt (64). Dagegen sind die volle Ausbildung des Corpus luteum und

die Eiimplantation gestört (64); beim Huhn sind Ovulation, Befruchtung und Eitransport ungestört (64).

Als ursächliche Vitamin E-Wirkung wird ein möglicher Einfluß von Vitamin E auf die ultramikroskopisch sichtbaren Membranen der glatten Muskelzellen des Uterus vermutet (79). Die Entstehung der sogen. Resorptionssterilität bei der Ratte erklärt C. MÜLLER (zit. bei 64) durch eine Kolliquationsnekrose, SHUTE (zit. bei 64) jedoch durch das Versagen der Durchblutung des Uterus.

Bei Haustieren wurde über Degenerationen der Corpora lutea in den Ovarien und zwar beim Mutterschwein bei Vitamin E-Mangel berichtet (62).

Bei Hündinnen ist die Laktation gestört (62).

Bei normaler Vitamin E-Versorgung enthalten die Ovarien von Kühen bei voller Entwicklung des Corpus luteum fast zweimal so viel Vitamin E als normal (80).

BRÜGGEMANN und NIESAR (80) fanden auf Grund chemischer Untersuchungen von Blut und Geweben von 100 Kühen, daß keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen Zyklussterilität und Wirkstoffgehalt bestanden.

Bei sehr vitaminreicher Ernährung traten beim Lamm und Schaf vaginale Veränderungen durch Übererregung der Sexualorgane durch Tocopherol und Ascorbinsäure auf (81).

Auch über den Einfluß von Vitamin E auf die intrauterine Entwicklung liegen Berichte vor.

Bei Föten von Ratten, Hühnern und Meerschweinchen kommt es unter Vitamin E-Mangel frühzeitig - bei Ratten vom 16. Tag an - zu Störungen in der Anlage von Blutgefäßen, zu Gefäßerweiterungen, Verdünnungen der Gefäßwände, Stauungen, Hämorrhagien und Plasmadiapedese (64).

Beim Fötus der E-avitaminotischen Maus sah MASON (zit. bei 64) massive Blutungen und eine vor allem Amnionfalte, Mesoderm, Dottersack und Blutinseln betreffende Entwicklungshemmung. Beim Huhn wurden Hämorrhagien beobachtet, die zum Absterben der Embryonen führen können.

Eine derartige Sterilität infolge Embryonalblutungen wurde von ADAMSTONE (zit. bei 64) als spontan auftretende Geflügelkrankheit beschrieben. Ovulation, Befruchtung und Eitransport sind hierbei stets ungestört.

Die Embryonalsterblichkeit in Bruteiern von Hennen ist bei E-Avitaminose vom 4. Tag der Brutzeit an erhöht, bei Truthennen tritt der Tod der Embryo-

nen meist zwischen dem 24. und 28. Tag ein (62).

Bei den Jungtieren in der Saugperiode von E-avitaminotischen Rattenmüttern treten bereits drei Wochen post partum Paresen und schließlich totale Lähmung auf, die kurz danach irreversibel werden. Werden die Jungen von normal ernährten Müttern aufgezogen, bleiben sie gesund; dagegen erkranken normale Jungtiere, wenn sie E-avitaminotische Ammen haben. Die Sterblichkeit der E-avitaminotischen Jungtiere ist beträchtlich erhöht (64).

Bei Vitamin E-Mangel bei Haustieren sterben die Föten von Schweinen ab und werden resorbiert. Lebendgeborene kümmern und neigen zu Muskeldystrophie und toxischer Leberdystrophie (62).

Vitamin E scheint bei Wiederkäuern zur Aufrechterhaltung der Fruchtbarkeit nicht unbedingt notwendig zu sein (62), da die Fruchtbarkeitsleistung einer vitamin-E-arm gefütterten Herde drei Generationen lang gleich gehalten werden konnte (62).

Bei ungeklärter Vitamin E-Bilanz soll die Fruchtbarkeit von Kühen und Stuten durch Vitamin E gesteigert werden können (62).

Bei Hunden und Pelztieren werden bei Vitamin E-Mangel die Welpen tot geboren oder sterben kurz nach der Geburt (62). Diese zeigen Hämorrhagien, vornehmlich im Gehirn (62).

7. Endokrine Korrelation des Vitamins E unter besonderer Berücksichtigung des HVL - NNR - Systems

Die größte relative Anreicherung des Vitamins E im Körper ist in der Hypophyse und in der Nebenniere anzutreffen (64).

Die Hypophyse (H) bei Vitamin E-Mangel zeigt nach den histologischen Untersuchungen von BARRIE u. a. (64) eine Degranulation der baso- und acidophilen Zellen des Vorderlappens, ausgebildete "Kastrationszellen" (bzw. SCHLEIDT'sche Siegelringzellen) fanden andere Untersucher (64). Weiterhin ergeben sich bei der Vitamin E-Mangelratte physiologische Veränderungen wie nach Hypophysektomie (64). VERZAR 1941 (64) wies erstmalig auf die Ähnlichkeit der Symptome bei E-Avitaminose mit der HVL-Insuffizienz hin, der Hormongehalt der H wurde bei Vitamin E-Mangel verändert gefunden (64).

Nach Vitamin E-Zufuhr erwiesen sich die oben beschriebenen Veränderungen als reversibel.

BECKMANN hält die H für den primären Rezeptor der Vitamin E-Wirkung.

C. MÜLLER (zit. bei 64) beobachtete auch bei Mangel an Tocopherol im biologischen Test das Zustandekommen einer erhöhten gonadotropen Wirksamkeit der H.

GAETHGENS (zit. bei 64) hält jedoch die Annahme einer spezifischen Tocopherolwirkung zum Verständnis der Hypophysenwirkungen nicht für erforderlich.

Es besteht auch die Vermutung, daß der stimulierende Einfluß des Vitamins E auf die H auch über eine verbesserte Kapillarisation derselben zustande kommen kann (64).

Über die gonadotrope Funktion des HVL geben die Experimente (82) nach der Versuchsordnung von LIPPSCHÜTZ (zit. bei 65) Aufschluß (Umgehung der Rückwirkung der Ovarialhormone auf die H durch Ovartransplantation in die Milz).

V. MASSENBACH und STADTMÜLLER glauben bei Ratten gezeigt zu haben, daß Vitamin E-Gaben den follikelstimulierenden und den luteinisierenden Faktor des gonadotropen HVL-Hormons aufeinander abstimmen.

Diese "Luteinisierung" sah auch OTTOLENGHI - PRETI (zit. bei 65) bei seinen Versuchen an juvenilen und geschlechtsreifen, kastrierten Kaninchen, die er 1 - 2 Wochen täglich mit 65 mg / kg Vitamin E behandelte.

KAEMMERER (65) fand in Versuchen an Kaninchen und Mäusen, daß subtherapeutische Dosen Vitamin E, dem Choriongonadotropinpräparat zugesetzt, "hormonsparend" wirkt.

ROY (zit. bei 64) glaubt, daß Vitamin E - direkt oder indirekt - durch vermehrten Abbau von Cholesterin die Bildung von Sexualhormonen fördert.

Tocopherol soll auch an der Umwandlung von Progesteron in Pregnandiol beteiligt sein (64).

Infolge der Intensivierung der Progesteronwirkung kommt es zu einer Verbesserung der Uterusfunktion und auch die Glykogenanreicherung im Uterus wird gefördert (64).

Vitamin E vermag auch allein in einer Gesamtdosis von 4 - 6 g das Endometrium aufzubauen (V. MASSENBACH und HEINSEN) (zit. bei 64). Nach einer Reihe von Autoren (64) wird die Wirkung der Ovarhormone durch Vitamin E verstärkt.

Auch von BRÜGGEMANN und Mitarb. (77) wurde eine Uterusstimulierung bei Vitamin E-Verabreichung gezeigt.

Besonders erfolgreich erwies sich dabei die intraperitoneale Injektion eines wasserlöslichen Vitamin E-Präparates. Offensichtlich keine synergistische Wirkung zwischen Vitamin E und dem oestrogenen Hormon wurde bei der Ratte von anderen Autoren gefunden (39).

Zwischen Vitamin E und Testosteron besteht ein Synergismus (64).

Vitamin E aktiviert die Wirkung des Androsterons (75).

Nach RAFFY (83) soll Vitamin E (beim Menschen) die dienzephalo-hypophysäre Funktion regulieren, die Produktionsmenge von androgenem Hormon steigern, klimakterische Hyperthyreosis unterdrücken und das Ovar-Epithel stimulieren, wodurch die Reaktionsfähigkeit gegenüber den gonadotropen Hormonen gesteigert wird.

Nach BECKMANN (64) sind verschiedene Autoren der Auffassung, daß Vitamin E auch Funktionen des Zwischenhirns beeinflußt. Die Beeinflussung der Funktion des vegetativen Systems beim Menschen durch Vitamin E fände damit eine Deutung.

HEINSEN (zit. bei 64) hält die Wirkungsweise und Wirkungsrichtung des Vitamins E auf das dienzephalohypophysäre System von dessen Ausgangslage und Reaktionsbereitschaft für abhängig. Außerdem ist zumindest eine sekundäre Wirkung auf andere endokrine Drüsen wie NN, Pankreas und Sexualdrüsen anzunehmen.

TONUTTI (zit. bei 64) kommt auf Grund seiner histologischen Untersuchungen an E-avitaminotischen Ratten zu der Ansicht, daß wahrscheinlich primär eine Keimdrüschenschädigung eintritt, als deren Folge eine Änderung in der Erzeugung oder Ausschüttung glandotroper Hormone des HVL auftreten, was andererseits wieder sich in der Peripherie auswirkt. Der H den primären Angriffspunkt des Vitamins E zuzuweisen, hält er auf Grund der morphologischen Befunde an den endokrinen Organen von Vitamin E-Mangelratten in Übereinstimmung mit MÜLLER (zit. bei 64) nicht für möglich.

Auch andere Autoren (84) beobachteten, daß Keimepithelschädigungen bei männlichen Ratten ausgeprägte Veränderungen der H zur Folge hatten.

Eine Atrophie der Schilddrüse (SD) bei Vitamin E-Mangel wurde von BARRIE 1938 (zit. bei 64), eine Ruhigstellung von BOMSKOW und SCHNEIDER 1939

(zit. bei 64) beobachtet. Dagegen fand RUPPEL (zit. bei 64) so gut wie keine SD-Veränderungen bei der Vitamin E-Mangelratte.

Interessant ist auch, daß muskuläre Vitamin E-Mangelsymptome bei Ratten durch Verfütterung von SD von TENTORI, TOSCHI und VIVALDI (zit. bei 64) erzeugt werden konnten.

Ein Zusammenhang zwischen Vitamin E- und SD-Tätigkeit wurde durch Grundumsatzbestimmung von VERZAR und Mitarb. 1931 (zit. bei 64), durchgeführt an Ratten, aufgezeigt.

SINGER (zit. bei 64) stellte an Ratten fest, daß Vitamin E-Mangel zu SD-Unterfunktion führt.

Einen die SD-Tätigkeit aktivierenden Einfluß des vitamin-E-haltigen Weizenkeimöls wiesen PAAL und KLEINE (zit. bei 64) in Untersuchungen an Ratte und Maus nach.

Übermäßige Vitamin E-Zufuhr hat bei männlichen jungen Kaninchen nach mehreren Wochen u. a. ein gesteigertes Epithelwachstum der SD (78) zur Folge.

Über Hyperthyreoidismus durch hohe Vitamin E-Gaben bei Versuchstieren berichten auch HAIM und SYM (zit. bei 64). Bei weiblichen Ratten fand REISS (zit. bei 64) bei langanhaltender Vitamin E-Fütterung keine SD-Veränderungen, wohl aber Störungen im Ablauf des Zyklus.

Eine Hyperämie der Thyreoidea, die im gleichen Maß wie die Steigerung der zugeführten Vitamin E-Dosis zunahm, zeigten Meerschweinchen, wobei die Anhäufung des radioaktiven Jods in der SD erhöht war (85).

Eine Reihe von Autoren erklärt die Beziehung des Vitamins E zur SD und NN über die Wirkung auf die H.

HÜTER (78) nimmt auf Grund von Kaninchenversuchen, HEINSEN (zit. bei 64) auf Grund therapeutischer Erfolge beim Menschen bei Thyreotoxikose eine Stimulierung des thyreotropen (T. S. H.) Hormons an.

Bei Vitamin E-Mangel sah TONUTTI (86) Um- und Rückbildungsvorgänge der NNR. Die Veränderungen zeigen eine Parallele zu Veränderungen nach H-Ektomie, Thyreidektomie und Kastration.

Gleiche Veränderungen fand BLUMENFELD (zit. bei 64). Eine Hypotrophie der NNR bei Vitamin E-Mangel dagegen stellte BIDULPH-MEYER (zit. bei 64) fest.

Eine Vermehrung des Fettgehalts der Rinde beobachteten EVANS, EMERSON und EMERSON (zit. bei 64).

Bei 6 Monate lang vitamin-E-arm ernährten Ratten berichten über histologische Veränderungen mit erniedrigtem Lipoidgehalt ESCUDERO und Mitarb. (zit. bei 64).

Bei lange vitamin-E-frei ernährten Mäusen ergaben histologische und histochemische Untersuchungen eine Rindendysplasie, die durch Hyperfunktion infolge eines langdauernden Stress hervorgerufen wurde (87).

Vitamin E-Mangel bedeutet einen starken Stress, der Änderungen in der NN-Aktivität verursacht (62), wobei gleichzeitig eine Degeneration der Herz- und Skelettmuskulatur sichtbar wird (62).

Bei Ratten, die sehr hohe Dosen Vitamin E erhielten, - 100 mg täglich - beobachteten BOTTIGLIONI und STURANI (83) hypertrophische NN mit einer relativen Verbreiterung der Fasciculata und einer Zunahme des Lipoidgehalts. Vitamin E-Mangeltiere zeigten NN-Verhältnisse, die denen bei Tieren, die mit hohen Dosen behandelt waren, glichen. Bei Gaben von 2 - 20 mg täglich zeigten die NN normale Verhältnisse. Nach intramuskulären Vitamin E-Gaben am Meerschweinchen stellten PIRTKIEN, STEEGE und ARZT (zit. bei 64) eine geringgradige Hyperaktivität der NNR fest.

SCHRAMM (88) fand die NN-Gewichte von weiblichen Ratten, die mit Vitamin E behandelt worden waren, bei Anwendung einer einmaligen 15 mg Dosis nach acht, insbesondere aber nach vierundzwanzig Stunden, deutlich vergrößert. Die Behandlung mit einem wasserlöslichen Vitamin E-Präparat ergab keine eindeutigen Befunde hinsichtlich einer corticotropen bzw. gonadotropen Wirkung, soweit diese im akuten Versuch am Verhalten der Ascorbinsäurekonzentration zu erkennen waren.

GROS (89) schreibt dem Vitamin E eine Wirkung auf den Stoffwechsel primär über den HVL und sekundär über die NNR zu. Vitamin E-Gaben an ovariectomisierte Ratten führten zu einer Verlängerung des Prooestrus, einer Verdoppelung des Uterusgewichts, einer Abnahme der Basophilen und zu einer Vermehrung der Eosinophilen in den Kapillaren der Hypophyse. Vitamin E soll dabei über die NN wirken (90).

HEINSEN und KÖKER (91), HEINSEN und SCHEFFLER (92) wandten in der Humanmedizin hohe Dosen von Vitamin E bei verschiedenen Schäden erfolgreich an. Da sie dabei mit Hilfe des Thorntests und Untersuchung der Ausscheidung

der 11-Oxycorticoide im Harn eine Beeinflussung der NNR-Funktion durch Vitamin E nachweisen konnten, kamen sie zu folgendem Schluß: Vitamin E verstärkt die ACTH-Produktion, die ihrerseits eine erhöhte Abgabe von Cortison durch die NNR bewirkt.

Keine gesicherte Veränderung der Steroidausscheidung wurde von WEISS-BECKER (zit. bei 64) gefunden.

Die Biosynthese der Corticosteroide in vitro soll nach STAUDINGER (zit. bei 64) bei Tocopherolzusatz gesteigert werden. Eine höhere C-17-Ketosteroidausscheidung mit dem Harn unter Vitamin E-Einfluß erfolgt nach CERESA (zit. bei 64), während HÜPPE und MELLINGHOFF (zit. bei 64) bei männlichen Versuchspersonen mit verschiedenen hohen Vitamin E-Gaben keine Veränderung feststellen konnten.

Eine Anregung des HVL und der NNR durch Vitamin E lehnen BONATI, LORENZINI und MANFREDE (Zit. bei 64) auf Grund eigener Untersuchungen am Tierversuch ab.

Eine direkte Aktivierung der Produktion von Hormonen durch Vitamin E lehnen HÜPPE und MELLINGHOFF (zit. bei 64) auf Grund humanmedizinischer Untersuchungen ab. Sie vertreten die Ansicht, daß der Einfluß des Tocopherols auf eine angebliche Steigerung der Produktion androgener und oestrogenen Substanzen wohl am ehesten als eine Gewebswirkung des Vitamins E anzusehen sei.

Vitamin E-Hypervitaminose, experimentell beim Meerschweinchen erzeugt, ergab an Hypophyse, Pankreas, Nebennieren, Hoden und Ovarien, nicht aber der Schilddrüse, eine erhöhte Aktivität.

Eine Herabsetzung des Ascorbinsäure- und ein Ansteigen des Cholesteringehalts in der Nebenniere, sowie Verhinderung einer Gewichtszunahme wurde bei langdauernden Versuchen ebenfalls beobachtet (93).

Aus der vorangegangenen Literaturübersicht über die Wirkungsweise der Vitamine A, D und E resultiert, daß bei umfangreicher Kenntnis des Symptombildes letztlich noch nicht mit Sicherheit eindeutig spezifische, biochemisch definierte, physiologische Angriffspunkte gefunden werden konnten. Die im wesentlichen uneinheitlichen Befunde über die Beteiligung des HVL-NNR-Systems am Symptombild sollten in vorliegender Arbeit mit einer quantitativen Auswertemethode einer neuen Überprüfung zugeführt werden.

III. METHODIK

1. Versuchstiermaterial, Haltung und Fütterung

Als Versuchstiere wurden Albinoratten eines im Institut gezüchteten Sprague-Dawley-Zuchtstammes verwendet. Jeweils 4 - 7 Geschwistertiere aus einem oder mehreren Würfen wurden nach Wurf, Gewicht und Geschlecht in eine Versuchs- und dazugehörige Kontrollgruppe eingeteilt. Das Anfangsgewicht der Tiere zu Versuchsbeginn lag zwischen 40 und 70 g, das Endgewicht je nach Versuchsdauer und Diät zwischen 80 und 110 g. Die Ratten wurden durch Ohrmarken gekennzeichnet und ihr Gewicht zu Versuchsbeginn und -ende und während des Versuchs jeden zweiten Tag protokolliert.

Bei allen Versuchen wurden die Ratten unter gleichmäßigen Bedingungen bei einer Raumtemperatur von +21 bis +24⁰ C in Käfigbatterien auf Kotgittern gehalten.

STÖCKL (9) konnte zeigen, daß bei karyometrischer Auswertung der NN die Haltungsbedingungen für die Ausgangswerte von Einfluß waren.

Wasser und Futter erhielten die Ratten ad libitum. Die Tiere der Versuchs- wie der Kontrollgruppen erhielten die gleiche Diät.

Das Futter wurde in folgender Zusammensetzung an die Tiere der Versuchs- und Kontrollgruppen bei den einzelnen Versuchen gegeben:

Versuch I, II, III, IV, VIII, IX, X, XIII und XVII :

45 Gewichtsteile	Weizen geschrotet
30 "	Mais "
15 "	Soja "
2 "	Luzernegrünmehl
3 "	Magermilchpulver
2 "	Mineralstoffmischung
	(40, 0 % kohlensaurer Futterkalk
	30, 0 % phosphorsaurer Futterkalk
	24, 5 % Viehsalz
	5, 0 % Magnesiumsulfat
	0, 5 % Spurenelementsalze (Fe:Cu:
	Mn:Co = 5:1, 5:1:0, 2))

Bei Versuch V und XV wurden gereicht:

45 Gewichtsteile	Weizen geschrotet
30 "	Mais "
7 "	Soja "
5 "	Luzernegrünmehl
5 "	Magermilchpulver
2 "	Mineralstoffmischung
	s. Seite 28!

Bei Versuch VI setzte sich die Kost folgendermaßen zusammen:

50 Gewichtsteile	Weizen geschrotet
35 "	Mais "
7 "	Soja "
3 "	Magermilchpulver
3 "	Hefe

Bei Versuch XIV und XVI wurden

50 Gewichtsteile	Weizen geschrotet und
50 "	Mais " verfüttert.

Die rachitogene Kost, die im Versuch XI und XII gereicht wurde, wies folgende Zusammensetzung auf:

30 Gewichtsteile	Weizenmehl
30 "	Maismehl
15 "	Sojamehl
3 "	Ca. -Carbonat
1 "	Kochsalz

Bei Versuch VII gelangte folgende relativ vitamin-A-arme Kost zur Verfütterung:

A-Mangeldiät ungebacken nach den im Institut üblichen Vorschriften:

2 960 g	Weizennachmehl
560 g	Magermilchpulver
160 g	Trockenhefe
200 g	Olivöl
120 g	Mineralstoffmischung s. Seite 28!

Der Diät wird Vitamin D₃ (80 000 IE Vitamin D / g)
0,1 g : 2 000 g Futter zugefügt.

Die Applikation der Versuchssubstanzen erfolgte bei oralen Präparaten mittels einer Pipette, parenterale Verabreichung mittels Injektion.

Die Kontrolltiere erhielten sinngemäß die gleiche Menge reines Olivenöl oder Lösungsmittel appliziert, um unspezifische Effekte des Vehikels oder infolge der Manipulation auszuschalten.

Folgende Präparate kamen zur Anwendung:

ACETHROPAN, A C T H "Höchst"	Farbwerke Höchst Frankfurt / Main - Höchst
EPHYNAL	Hoffmann - La Roche Grenzach i. Baden
VOGAN	Merck / Darmstadt
Vitamin D ₃ Kristallin	Merck / Darmstadt
Vitamin E ad us. vet., Tocopherolalkohol in wasserlöslicher Form	Knoll - AG, Chem. Fabriken Ludwigshafen / Rhein
(Dazu das Lösungsmittel für Tocopherol: die 9%ige Lösung einer oberflächenaktiven Substanz)	von der Fa. Knoll zur Ver- fügung gestellt.

Für Verdünnung von Ephyнал, Vogan und Vitamin D₃ wurde reines Olivenöl verwendet. Die Ratten wurden mittels Scherenschlag durch Dekapitation getötet. Dieses Verfahren, wie auch der Nackenschlag (94), hat den Vorteil, daß es keinerlei die histologische Morphologie beeinflussende Veränderungen in allen Bereichen der NN nach sich zieht, im Gegensatz zur Tötung durch Chloroform, elektrischen Strom oder Durchschneidung der Medulla oblongata.

Die NN wurden sorgfältig mit feiner Schere und Pinzette herauspräpariert und soweit als möglich vorsichtig von anhaftendem Bindegewebe befreit. Bestimmend war dabei, die NN vor jeder Deformation zu bewahren. Es zeigte sich nämlich im mikroskopischen Bild, daß die Kerne dabei ovale Gestalt annehmen und damit ihr wahrer Durchmesser durch eindimensionale Messung nicht

mehr ermittelt werden konnte. Ein ausgeübter Zug wirkte sich nachteiliger als Druck aus, da ersterer eine Kerndeformation im ganzen Bereich, letzterer nur eine Eindellung und damit nur eine lokale Kerndeformation zur Folge hatte.

Beide NN wurden sofort nach der Freipräparierung einzeln in Mulsäckchen gebunden und an markierten Fäden in die Fixierungsflüssigkeit eingehängt. Bei Versuch VI wurden jeweils die rechten NN gewogen. Bei allen Versuchen mit Ausnahme von Versuch XIII wurden in einem zweiten Arbeitsgang die Thymen freipräpariert und anschließend laufend gewogen. Diese Gewichte wurden dann bei der Auswertung der Versuche zum Vergleich bei den Ratten herbeigezogen, die im Wachstum und histologischen NNR-Befund erhebliche Abweichungen vom Gruppendurchschnitt zeigten, sogenannten Streuern. Nach KARG (95) ist der Befund einer akzidentellen Thymusinvolution als Einzelfall innerhalb einer Versuchsreihe als Kriterium für die individuelle Beeinträchtigung während des Versuchsablaufes zu werten.

2. Histologische Aufarbeitung

Es wurde nach der von TONUTTI (96, 97) speziell für Zellkernmessungen erarbeiteten Methodik verfahren.

- a) Die Fixierung der NN erfolgte in bekannter Weise in BOUIN-Mischung (ROMEIS) (98).
- b) Die Entwässerung durch (im Prozentgehalt)aufsteigende Alkoholreihe wurde vorgenommen durch Verbleib in 70 %igem Alkohol für 24 Stunden (dieser ist mehrmals zu wechseln, um die durch die Pikrinsäure hervorgerufene störende Gelbfärbung zu beseitigen),
in 80 %igem Alkohol für 12 Stunden,
in 96 %igem Alkohol für 3 - 4 Stunden,
in Isopropylalkohol zweimal jeweils 1 Stunde, (aber nicht länger).
- c) Die Entfernung des Alkohols geschah durch dreimaligen Verbleib in Methylbenzoat während 24 - 36 Stunden und in Benzol für je 5 Minuten.
- d) Die Paraffinierung erfolgte mittels
Benzolparaffin für 30 Minuten,
Paraffin I (Schmelzpunkt $54 - 56^{\circ}$) für 4 - 6 Stunden,
Paraffin II für 8 - 12 Stunden.
- e) Das Ausgießen und Härten wurde in der üblichen Weise vorgenommen.

f) Die Schnittdicke betrug bei allen Versuchen 8 μ . Es wurden Serienschritte angefertigt und die ausgewählt, welche das NN-Mark in der größten Ausdehnung zeigten. Sie wurden bei einer konstanten Wassertemperatur ausgebreitet und auf völlig fettfreie Objektträger, um eine Trübung zu vermeiden ohne Klebemittel, aufgebracht. Die Fixation wurde erhöht durch das 2 - 3minütige Einbringen der beschickten Objektträger in einen Wärmeschrank mit einer Temperatur von 56° C.

Nach Trocknung wurden die Präparate mit Xylol I, II und III entparaffiniert und das Xylol wiederum durch kurzes Einstellen in 70 und 96 %igen Alkohol und Aqua dest. entfernt. Die Färbung wurde nach TONUTTI ausgeführt, wobei die Färbezeiten geringfügig geändert wurden:

Haematoxylin - Eosin nach EHRlich 4 Minuten, anschließendes Abspülen für 1 Minute in 10 %iger Kaliumalaunlösung zur Aufhellung, um die Kerne besser sichtbar zu machen. Gold-orange 2 Minuten, Anilinblau mit Phosphormolybdänsäure 2 Minuten.

Die Schnitte wurden mit gut flüssigem Caedax ohne Andrücken oder Beschweifen eingedeckt. Die Objektträger sollen noch gut mit Xylol benetzt sein, da die Schnitte sonst leicht austrocknen und rissig werden.

3. Technik der karyometrischen Auswertung

Färbung und Messung wurden so in Übereinstimmung gebracht, daß nur wenige Tage Spielraum blieben, um die noch volle Farbintensität auszunützen.

Pro Präparat wurden 200 Kernmessungen durchgeführt. Zur Verwendung kam ein Mikroskop mit feststehendem Tubus und beweglichem Tisch, um die Einstellung stabil zu halten.

Zur Messung der Zellkerndurchmesser wurde ein Schraubenokularmikrometer der Firma LEITZ verwendet, das an einem Ortholuxbinokularmikroskop anstelle des rechten Okulars eingesetzt wurde. Zur Eichung wurde ein Objektmikrometer (LEITZ) verwendet, dessen Teilstrichabstand ($\frac{1}{100}$) in mehreren Messungen mit der Distanz von 140 Teilstrichen des Okularmikrometers bei der benutzten Vergrößerung

$$\begin{aligned}\text{Okular} \times \text{Objekt} \times \text{Binokularaufsatz} &= 10 \times 45 \times 1,25 \\ &= 562,5 - \text{fach})\end{aligned}$$

übereinstimmend festgestellt werden konnte.

Ein Teilstrich entsprach demnach 0,0715 μ .

Wichtig ist auch, daß bei der Verwendung eines Binokularaufsatzes der Okularabstand für alle Vergleichsmessungen gleich (normal = 65) eingestellt wird, da nur für diesen Abstand der Vergrößerungsfaktor 1,25 genau zutrifft.

Die Beziehungen zwischen Okularmikrometerwerten, Durchmesser in μ und Kernvolumen sind für den üblichen Größenbereich bei STÖCKL (9) tabellarisch wiedergegeben.

Von den ca. 8 - 10 aufgeklebten Schnitten wurde jeweils einer mit größtem NN-Durchmesser und der schärfsten Kernrandzeichnung ausgewählt. Der Meßbereich verlief in der äußeren Fasciculata entlang der Zona glomerulosa in ca. 40 μ Breite. Innerhalb eines Gesichtsfeldes wurden alle Kerne gemessen, die eine runde Form und eine deutliche Kerninnenstruktur mit einem Nukleolus aufwiesen. Dadurch wurde die Messung von Erythrocyten, die im allgemeinen deutlicher gelb gefärbt erschienen, vermieden. Durch Anlegen der nach rechts und links beweglichen Meßlinie tangential des Kerns konnte die Differenz an der Okularmikrometertrommel abgelesen und protokolliert werden.

Das Gesichtsfeld wurde so oft gewechselt, wobei möglichst der Gesamtbereich durchgemessen wurde, bis die erforderliche Zahl von 200 Kernen erreicht war.

Im Gegensatz zu TONUTTI gelangte jeweils nur eine NN zur Auswertung und zwar normalerweise die linke, da STÖCKL (9) in der Auswertung keine deutlichen Unterschiede fand, wie auch eigene Nachprüfungen ergaben.

Die zweite NN eines Tieres, die bis zur Einbettung in Paraffin die gleiche Behandlung erfuhr, wurde in Reserve gehalten.

Eine Umrechnung der Kernvolumina aus den gefundenen Durchmesserwerten erfolgte nicht, da ja der Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren dadurch keine Verdeutlichung erfährt.

4. Rechnerische Auswertungen

Das durchschnittliche Maß des Kerndurchmessers wurde für jedes Tier der Versuchs- und Kontrollgruppen ermittelt. Für den Durchschnittswert einer Gruppe gilt dann als Streuung oder mittlere Abweichung der Mittelwert

$$= \pm \frac{s}{\sqrt{n}} ,$$

wobei jedem einzelnen Mittelwert bereits 200 Kerndurchmesser zugrunde liegen. Mit Hilfe des t-Testes wurde geprüft, ob die gegebenenfalls entstandene Differenz zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen als statistisch gesichert anzusehen ist (99).

Eine Nachprüfung erfolgte im WILCOXON-Test (100), der insbesondere für den Gruppenvergleich bei der Gewichtsentwicklung Anwendung fand.

Zur Darstellung der Häufigkeitsverteilungen wurden die Größen der in Okularmikrometereinheiten gemessenen Kerndurchmesser entsprechend der Anzahl ihres Vorkommens eingetragen und die Punkte verbunden.

Infolge der geringen Tierzahlen sind die so entstandenen GAUSS'schen Kurven stark verzerrt. Es wurde daher eine Glättung der Kurven vorgenommen nach der Formel

$$b' = \frac{a + 2b + c}{4} .$$

Eine Kurvenverschiebung der Versuchsgruppe mit dem Kulminationspunkt nach rechts bedeutet eine progressive, nach links eine regressive Transformation.

IV. VERSUCHE UND ERGEBNISSE

1) Als methodische Vorversuche zur Überprüfung des Verfahrens bei eigener Handhabung wurde das spezifisch nebennierenaktivierende Hormon appliziert.

Um das Bild einer provozierten NNR-Aktivität zu erhalten, wurden zwei Ratten im Abstand von 8 Stunden jeweils 20 IE ACTH s.c. injiziert, drei Vergleichstiere blieben unbehandelt.

Die NN der Versuchstiere zeigten 28 Stunden nach der Erstinjektion gegenüber den Kontrollen das Bild einer progressiven Transformation; bei der Standardsubstanz ließen sich also schon mit diesen geringen Tierzahlen eindeutige Zellkernvergrößerungen nachweisen.

Tabelle 1

Versuch I: ACTH-Injektion 3 x 20 IE pro Tier

Tier-Nr.	Versuchsgewicht	OKM-Einh.	NNR - Kerndurchmesser		Mittelwerte
			μ	μ^3	
506	92	92,3	6,59	150	143
507	104	90,5	6,47	142	
508	84	89,2	6,38	136	

509	88	100,3	7,17	194	185
511	91	97,3	6,96	176	

Aus der hier demonstrierten Rechnung ergibt sich, daß die tatsächlichen Meßwerte, die der Unterschiedsbeurteilung zugrundegelegt werden können, bereits in den Okularmikrometereinheiten zum Ausdruck kommen. Die so ermittelten Kerndurchmesserwerte der beiden ACTH-Tiere zeigen in diesem Beispiel im Mittel 9 % Zunahme gegenüber dem Ausgangsniveau der Kontrolltiere. In der Tabelle ist gleichzeitig noch eine Umrechnung der Durchmesserereinzeltwerte auf absolute Meßeinheit (in μ auf Grund der Eichung) sowie die Errechnung des Kernvolumens (nach der Kugelformel $v = \frac{4}{3} r^3 \cdot \pi$) vorgenommen

worden. Für letztere ergibt sich eine absolute Zunahme der Mittelwerte bei den Versuchstieren von über 29 % gegenüber den Kontrollen. Diese Umrechnung ergibt Anhaltspunkte über die tatsächlich eingetretene Vermehrung des produktionsfähigen NNR-Gewebes. Da jedoch bei dieser rechnerischen Manipulation keine genauere Aussage hinsichtlich der Meßergebnisse erzielt wird (die methodischen Fehler werden durch den Umrechnungsfaktor entsprechend mitvergrößert) haben wir bei den folgenden Wiedergaben der Ergebnisse auf Umrechnung gänzlich verzichtet und haben für die Differenzrechnung lediglich die tatsächlich gemessenen Okularmikrometereinheiten zugrunde gelegt. Damit wird dem eigentlichen Versuchsziel, relative Unterschiede zwischen den Ergebnissen von parallel laufenden Versuchs- und Kontrolltieren darzustellen, hinreichend und so genau wie möglich Genüge getan.

2) Versuche mit Vitamin A

Der Einfluß von Vitamin A-Gaben auf Körpergewicht und Fasciculatazellkerngröße wurde an 98 Ratten in 6 (II - VII) Versuchen überprüft, wobei normal ernährte Tiere und solche, die vitamin A-arm ernährt wurden, Verwendung fanden. Die erste Serie der Versuche mit Vitamin A umfaßt 4 hinsichtlich der Zeitdauer und der Dosis unterschiedliche Experimente, die in Fortführung der von STÖCKL (9) im gleichen Institut vorgenommenen Vitamin A-Experimente durchgeführt wurden. Ähnlich wie dort erhielten wachsende Ratten (Ausgangsgewicht je nach Versuchsdauer zwischen 40 und 70 g) eine nach den Institutserfahrungen für diese Wachstumsperiode als geeignet erkannte Grundration, bei der die natürliche Vitamin A-Versorgung durch die Luzernegrünmehl-Komponente gewährleistet war (s. methodischer Teil).

Im Versuch V standen sich 5 Kontrolltiere und 5 Versuchstiere gegenüber, letzteren wurden täglich 2 000 IE Vitamin A in ölgiger Lösung (Vogan) 6 Tage lang oral appliziert. In Versuch III erhielten 5 Ratten die nämliche Dosis (2 000 IE Vitamin A als Vogan) während einer Zeitdauer von 13 Tagen, während im Versuch IV lediglich 3 Tiere aus dem gleichen Kollektiv 10 000 IE Vitamin A über den gleichen Zeitraum hinweg täglich oral appliziert erhielten. Für beide Versuche (III und IV) galten 6 Vergleichstiere als Kontrollen.

In dem letzten Versuch dieser Serie, - Versuch V - in dem 14 Ratten eine etwas modifizierte Grunddiät erhielten (s. Methodik), betrug die tägliche orale Applikation an Vogan 4 000 IE Vitamin A für die 7 Ratten der Versuchsgruppe. Diese Menge wurde über einen Zeitraum von 12 Tagen verabreicht.

Für die vorgenannten 4 Versuche wurden jeweils die Körpergewichtsentwicklung protokolliert sowie im Sinne der Fragestellung die NNR histometrisch untersucht. In keinem Falle konnte innerhalb dieser kurzen Versuchsdauer ein gesicherter Unterschied in der Körpergewichtsentwicklung zwischen Kontroll- und Versuchstieren festgestellt werden. Wir verzichten deshalb auf ausführliche Wiedergabe der Protokolle; auch die Unterschiede der Mittelwerte aus den karyometrischen NNR-Untersuchungen zwischen vitamin-A-behandelten Tieren und Vergleichstieren waren sehr gering und hatten nur eine Zufallswahrscheinlichkeit von $P > 5\%$.

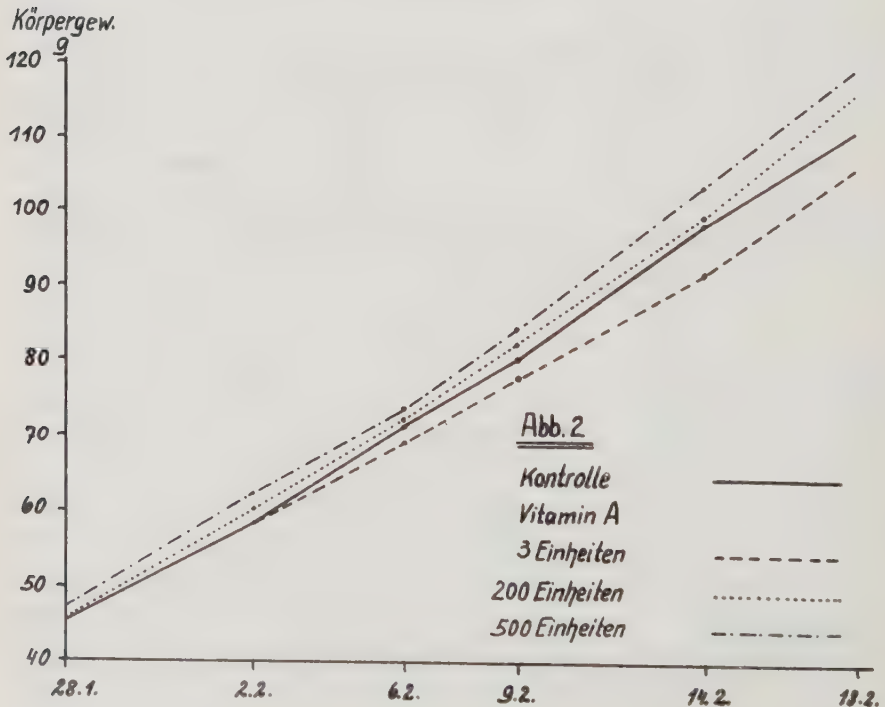
Wir fassen diese Ergebnisse mit den in sinngemäßer Versuchsanstellung von STÖCKL (9) gewonnenen Resultaten in der Tabelle 2 zusammen und geben damit einen Überblick über diese Art von mit Vitamin A durchgeführten Versuchen. Es resultiert, daß kein deutlicher bzw. ein sehr uneinheitlicher Einfluß des Vitamins A auf die Fasciculata-Kerngröße konstatiert werden konnte.

Tabelle 2

Versuch	Dosis Vit. A	Dauer Tage	Differenz d. mittl. Fasc. - Kerndurchmes- ser d. Versuchsgr. gegenüber Kontr.	gesichert (=Zufalls- wahrschein- lichkeit)
	IE		in %	$< 5\%$
+))	500	11	- 1,8	-
+))	500	16	- 1,7	-
I	2 000	6	+ 4,4	-
+))	2 000	7	- 7,7	+
II	2 000	12	- 1,7	-
+))	4 000	4	- 6,4	+
+))	4 000	7	- 5,7	+
III	4 000	12	+ 0,4	-
IV	10 000	12	+ 1,0	-
+) STÖCKL (9)				

Als weitere Versuche zur Prüfung des Einflusses unterschiedlicher Vitamin-A-Dosierungen auf die NN wurden Wachstumsversuche über einen längeren Zeitraum durchgeführt.

Beim ersten Versuch VI erhielten Tiere mit einem Ausgangsgewicht von ca. 45 g 20 Tage lang täglich 3 IE, 200 IE bzw. 500 IE Vitamin A in Form von Vogan appliziert, die Kontrolltiere bekamen die gleiche Applikationsmenge an Olivenöl sinngemäß gereicht. Es ergaben sich somit 4 Versuchsgruppen mit Tierzahlen von 10, in einem Fall 9 Tieren pro Gruppe. Die Grunddiät war normale Versuchskost (s. Methodik). Der Wachstumsverlauf bei diesen Versuchen ist als graphische Darstellung für die Gruppenmittelwerte in Abb. 2 wiedergegeben. Es zeigt sich, daß zufällig bei der Gruppe mit nur 3 IE Vitamin A-Zulage etwas geringere Gewichtszunahmen erzielt wurden. Demgegenüber hoben sich in der Gewichtsentwicklung die Gruppen mit den hohen Vitamin A-Gaben deutlich (aber gegenüber der eigentlichen Kontrollgruppe nicht gesichert; $P > 5\%$), insbesondere gegenüber der Gruppe 2, durch Mehrzunahme und zwar entsprechend den Dosisunterschieden ab.



Bei den letztgenannten beiden Gruppen mit hoher Vitamin A-Dosis konnte auch eine bessere Futterverwertung gegenüber den ersten beiden Gruppen festgestellt werden. Die Futterverwertung wurde durch Protokollierung des Futterverzehr bei Fütterung ad libitum ermittelt. Die entsprechenden Werte sind in Tabelle 3 aufgenommen. Dort sind auch die gleichfalls vom Vitamin A-Labor des Instituts ⁺⁾ ermittelten Vitamin A-Gehaltszahlen von den Rattenlebern niedergelegt. Aus diesen Vitamin A-Analysen sind deutlich die Gruppenunterschiede der Vitamin A-Versorgung ersichtlich, gleichzeitig kommt aber auch zum Ausdruck, daß durch die Zulage von 3 IE Vitamin A keine gegenüber der Ölkontrolle nennenswert verbesserte Vitamin A-Zufuhr erzielt werden konnte.

Karyometrische Untersuchungen wurden bei sämtlichen Tieren an den NN vorgenommen. Es ergaben sich keine gesicherten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die Okularmikrometerwerte (OKM) sind als Gruppenmittelwerte ebenfalls in Tabelle 3 aufgenommen. Auf eine Umrechnung auf absolute Meßeinheiten wurde aus bereits dargelegten Gründen verzichtet.

Die gleichfalls ermittelten NN-Gewichte (wiedergegeben in Tabelle 3 als relatives Drüsengewicht bezogen auf Körpergewicht) lassen ebenfalls keine eindeutige Tendenz einer Beeinflussung durch die Vitamin A-Versorgung sichtbar werden.

In einem weiteren Wachstumsversuch, der 14 Tage dauerte und bei dem die Ratten ein durchschnittliches Ausgangsgewicht von 60 g hatten, erhielten die Tiere eine vitamin-A-arme Diät (ungebackene Diät des Vitamin A-Labors, s. Methodik). Es wurden jeweils 6 Tiere in 3 Gruppen unterteilt, gegenüber den Kontrolltieren erhielten die Versuchstiere ein im Futter eingemischtes Vitamin A-Supplement von 92 mg bzw. 3,1 g Vitamin A-Palmitat pro kg Grunddiät.

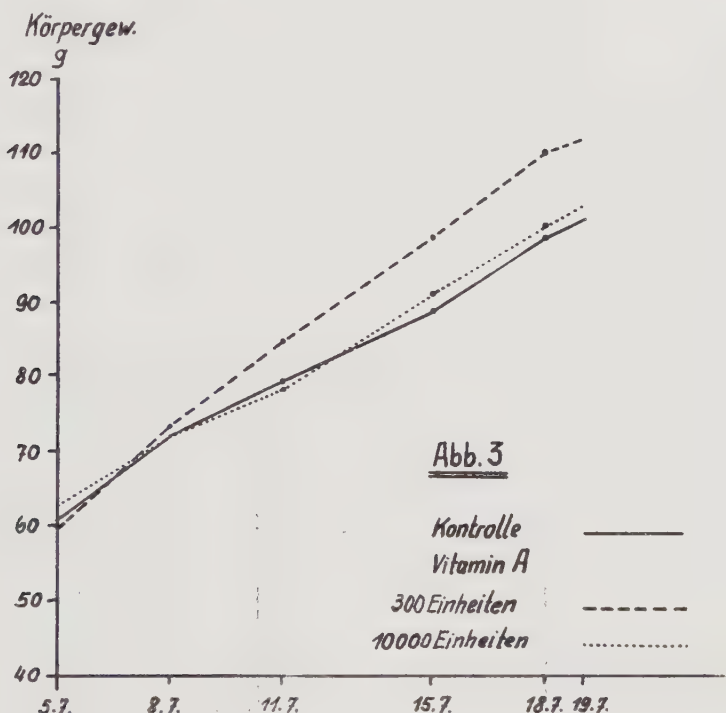
Unter Zugrundelegung der Umrechnung, daß 1 g Palmitat etwa 325 000 IE Vitamin A gleichzusetzen sind, kann eine tägliche Zufuhr von 300 IE Vitamin A bzw. 10 000 IE Vitamin A pro Tier und Tag bei den Zulagegruppen kalkuliert werden.

⁺⁾ Die Vitamin A-Bestimmungen wurden in dankenswerter Weise von Herrn Privatdozent Dr. Dr. J. Tiews übernommen.

Tabelle 3
Vitamin A-Versuch VI, Wachstumsversuch, Dauer 20 Tage (s. auch Abb. 2)

Gruppe und Dosis	Tierzahl	Körpergewicht Durchschn. Zunahme pro Tier u. Tag in g	d. i. Abweichg. gegenüber Kontr. in %	Futtermittelverzehr durchschn. in g pro g Körpergewichts- zuwachs	Gefundener Vitamin A-IE pro g Leber	Vitamin A-IE pro g Gesamtleber	1. NN mg pro g Kör-per-gew.	1. NN Kern-durchm. Fascic.-zellen i. Meß-einh. (OKM)
1. Kontr. Öl	10	3,26	+ 0	3,53	12	62	9,0	90,00
2. 3 IE Vit. A	10	3,02	- 7	3,55	14,5	72	9,1	89,14
3. 200 IE Vit. A	10	3,50	+ 7	3,36	247	1342	9,6	90,05
4. 500 IE Vit. A	9	3,65	+ 12	3,31	564	3330	8,1	90,05

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 4 und Abb. 3 zu entnehmen. Es zeigt sich, daß die niedrige Vitamin A-Dosis Gewichtsmehrzunahmen zur Folge hatten (Gruppenunterschied gegen Kontrolle gesichert; $P = 0,43\%$), die bei der sehr hoch dosierten Vitamin A-Versorgung gegenüber den Kontrollen nicht in Erscheinung trat. Die unterschiedliche Vitamin A-Versorgung ist gleichfalls in den abgestuften Vitamin A-Gehalten der Lebern wiedergefunden worden ⁺). Die Ergebnisse der histometrischen Auswertung der Fasciculatazellkerngrößen sind ebenfalls in Tabelle 4 aufgenommen, die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht ausgeprägt und haben eine Zufallswahrscheinlichkeit von mehr als 5 %.



+) Die Vitamin A-Bestimmungen wurden in dankenswerter Weise von Herrn Privatdozent Dr. Dr. J. Tiews übernommen.

Tabelle 4

Vitamin A-Vers. VII, Wachstumsversuch, Dauer 14 Tage

Gruppe	Tier- zahl	Körpergewichts- zunahme i. g pro Tier u. Tag	Gefundener Vit. A-Geh. in der Leber IE pro g Leber	IE pro Gesamt- leber	Durchschnittl. NN-Kerndurch- messer (Fasciculatazellen) in Meßeinh. (OKM)	Abweichg. gegenüber Kontr. in %
Kontrolle	6	2,93	52	262	88,2	
Vit. A-Palmitat 92 mg pro kg Futter	6	3,72	314	1 665	91,5	+ 3,7
Vit. A-Palmitat 3,1 g pro kg Futter	6	2,93	7 900	35 000	90,5	+ 2,6

3. Versuche mit Vitamin D₃

Mit Vitamin D₃-Zulagen wurden zwei Versuchsserien an 48 Ratten durchgeführt. Im Gegensatz zu früheren Experimenten, über die im Literaturteil berichtet wurde, sollte die Auswirkung einer Hypervitaminose D auf das HVL - NNR - System bereits nach sehr kurzfristiger Einwirkungsdauer erfaßbar werden.

Dazu wurden in der ersten Serie unserer Vitamin D-Versuche drei Experimente angesetzt, in denen Ratten im Gegensatz zu den jeweiligen Kontrolltieren mit abgestuften Vitamin D₃-Gaben in ölicher Lösung (0,1 ml täglich oral) behandelt wurden. Die Verteilung von Wurfgeschwistern in die gleichzeitigen Versuchs- bzw. Kontrollgruppen rechtfertigten die niedrigen Tierzahlen.

Die Ergebnisse dieser Versuche VIII - X sind in der Tabelle 5 und in Abb. 4 niedergelegt.

Sowohl im Wachstumseffekt als auch in der Beeinflussung der NNR ließen sich nach unseren Kriterien Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen bei den höchst dosierten Vitamin D-Zulagen konstatieren. Während bei der Gewichtsentwicklung Zulagen von 2,5 μ pro Tier und Tag während der kurzen Dauer von 6 Tagen eher Gewichtsmehrzunahmen als Depressionen erkennen ließen, stellten sich letztere bei den 50 - 500 μ Vitamin D₃-Gruppen entsprechend der Dosisabstufung schon deutlich ein.

Die histometrische Auswertung ergab innerhalb der kurzen Versuchszeit bereits eine eindeutige ($P < 0,1\%$) Progression als Zeichen einer akuten NNR-Aktivierung bei der 500 μ -Gruppe. Die Kurven in Abb. 5 stellen die Häufigkeitsverteilung der Kerngrößenklassen der Fasciculatakerne aus diesen Messungen dar. Es darf vermerkt werden, daß die Thymuskorrelationen zwischen Wachstum und den NN-Befunden aus diesem Versuchsmaterial von KARG (10) an anderer Stelle ausführlich ausgewertet wurden.

Abb. 4

Vitamin D

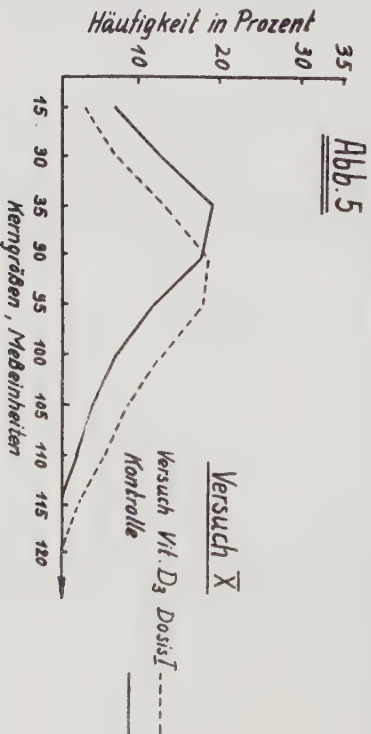
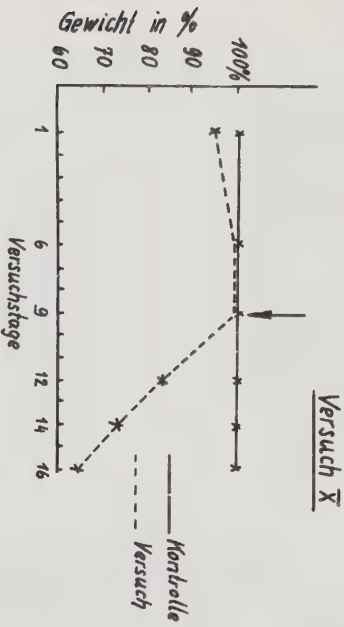
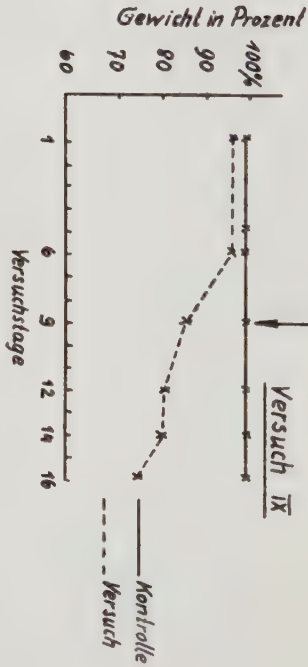
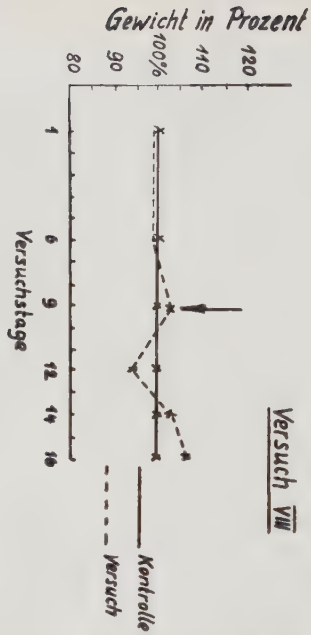


Tabelle 5

Wirkungen unterschiedlicher Vitamin D₃-Dosen, 6 Tage lang verabreicht, auf Wachstum u. NN von Ratten

Versuch	Gruppe Dosis	Tier- zahl	Durchschnittl. Körpergewichts- entwicklung in g pro 6 Tage	Durchschnittl. NN - Kerndurch- messer (Fasciculatazellen) in Meleinh. (OKM)	Abweichg. gegenüber Kontr. in %
VIII	Kontrolle	5	+ 19,4	90,93	- 0,7
	2,5 μ Vit. D ₃	6	+ 24,5	90,32	
IX	Kontrolle	4	+ 16,1	88,63	
	50 μ Vit. D ₃	5	+ 5,8	89,40	+ 0,2
X	Kontrolle	4	+ 24,0	87,83	
	500 μ Vit. D ₃	5	- 5,8	93,94	+ 6,9

In einer zweiten Serie der Vitamin D-Versuche wurden junge Ratten mit Ausgangsgewichten um 30 g auf rachitogene Diät gesetzt, wobei jeweils ein Teil der Tiere die prophylaktische Dosis von täglich 1 IE Vitamin D₃ oral pippetiert erhielt. In diesem Sinne wurde der Versuch XI, der 19 Tage dauerte, und Versuch XII, der über 30 Tage angesetzt war, durchgeführt.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 6 zusammengestellt. Da sich bei der Gewichtsentwicklung keine charakteristischen Unterschiede zeigten, wurden diesbezügliche Daten weggelassen, jedoch wurde der erhaltene Rachitisgrad, wie er auf Grund der im Institut üblichen röntgenologischen Auswertung ermittelt wurde (101), mitaufgenommen. Es geht daraus der eindeutige Schutzeffekt der angewandten Vitamin D-Dosis hervor. (Daß sich der Rachitisgrad beim kurzfristigeren 1. Versuch stärker als beim 2. ausprägte, hängt mit der langen Versuchsdauer des letzteren, bei dem es zu Beeinträchtigungen des Wachstumsverlaufes kam, zusammen.)

Die karyometrischen Untersuchungen der NNR-Kerne ergaben in beiden Versuchsreihen gewisse Regressionen bei den Tieren, die rachitisch belassen wurden. Auf Grund der niedrigen Tierzahlen konnten jedoch die Unterschiede zwischen den rachitischen Tieren und den Tieren, die Vitamin D₃-Zulagen erhalten hatten, die in beiden Versuchen deutlich zum Ausdruck kamen, nicht statistisch gesichert werden ($P > 5\%$).

Tabelle 6

Versuch	Dauer	Gruppe Dosis	Tier- zahl	Rachitisgrad gemessen a. d. Höhe des Tibia- spalts i. Röntgenbild mm x 4	Durchschnittl. NN-Kern- durchmesser (Fasciculata- zellen) in Meßeinh. (OKM)	Abweichg. gegenüber Kontr. in %
XI	19 Tg.	Kontr. rachitogen 1 IE Vit. D ₃ /tägl.	5	> 5, 0	82, 8	
			5	< 1, 4	86, 4	+ 4, 7
XII	30 Tg.	Kontr. rachitogen 1 IE Vit. D ₃ /tägl.	5	> 2, 0	82, 9	
			4	< 0, 8	86, 3	+ 4, 1

4. Versuche mit Vitamin E

Zur Überprüfung der Einwirkung des Vitamins E auf das HVL-NNR-System wurden fünf Versuche (XIII - XVII) an 55 Ratten durchgeführt. Die Tiere hatten zu Versuchsbeginn Gewichte zwischen 40 und 80 g, je nach Zeitdauer der vorgesehenen Applikation. Sie standen mit Gewichten zwischen 80 und 100 g für die Auswertung bereit. Gegenüber jeweiligen Kontrolltieren wurden ihnen 1, 5 mg, 3 mg bzw. 50 mg (letzteres bezogen auf 100 g Körpergewicht) Vitamin E in öliger Lösung täglich oral appliziert. Die Versuchsanordnung und Zeitdauer der Versuche (4 - 12 Tage) ist der Tabelle 7 zu entnehmen. Innerhalb der genannten Zeitabschnitte konnten keine Einflüsse auf das Wachstum festgestellt werden. Wir verzichten deshalb auf ausführliche Wiedergabe der Gewichtsprotokolle. Die Ergebnisse der histometrischen NNR-Untersuchungen, die wir in der Tabelle 7 in den Meßeinheiten wiedergegeben haben, zeigten ebenfalls keine merklichen Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen. Damit konnte in diesen Versuchen kein Vitamin E-Einfluß auf die Kerngrößen der Fasciculatazellen der NNR festgestellt werden.

Der Vollständigkeit halber sollen in diesem Zusammenhang weitere bisher unveröffentlichte Versuche von KARG und STÖCKL aus dem hiesigen Institut wiedergegeben werden, die gleichfalls ein negatives Resultat in Bezug auf Vitamin E-Einwirkung und karyometrisch faßbare NNR-Kapazität hatten. So waren in drei Versuchen mit 1, 3 mg eines anderen Vitamin E-Präparates (Enoulan forte) bei oraler Verabreichung weder nach 4, nach 10 noch nach 16 Tagen signifikante Einflüsse gegenüber Kontrollen festzustellen. Die geringfügigen Abweichungen entsprachen ähnlich wie bei den Versuchen mit Vitamin A eher einer Zellkernverkleinerung durch die Vitamin E-Gabe als einer Vergrößerung. Auch bei weiteren im Institut durchgeführten Vitamin E-Versuchen, z.B. bei der einmaligen Verabreichung an juvenile Tiere von 2 mg Tocopherolazetat intramuskulär bzw. 3 mg Tocopherol in wasserlöslicher Form intraperitoneal zeigten sich bei der Sektion nach 4 Tagen keinerlei Anhaltspunkte über etwaige Beeinflussung der histometrisch ermittelten NNR-Werte.

Tabelle 7

Versuche über Einfluß von Vitamin E auf die NNR

Versuch	Dauer	Gruppe Dosis	Tier- zahl	Durchschnittl. NN-Kerndurchmesser (Fasciculatazellen) in Meßeinh. (OKM)	Abweichg. gegenüber Kontr. in %
XIII	4 Tg.	Kontrolle +) 1,5 mg	6	92,45	
			5	91,30	- 1,2
XIV	12 Tg.	Kontrolle +) 1,5 mg	5	88,72	
			4	90,36	+ 1,8
XV	6 Tg.	Kontrolle +) 3 mg	6	93,96	
			6	91,26	- 2,8
XVI	12 Tg.	Kontrolle +) 3 mg	8	91,30	
			7	89,85	- 1,6
XVII	4 Tg.	Kontrolle +) 50 mg /KG	4	91,34	
			4	91,61	(+ 0,3)

+) Vitamin E als Ephynal

V. DISKUSSION

In den dargelegten Versuchen wurde - im Gegensatz zu früheren Bearbeitern ähnlicher Fragestellungen - eine histometrische Technik angewandt, um die Wirkung der fettlöslichen Vitamine A, D und E auf das HVL - NNR - System bei Ratten, in einem Alter kurz vor der Geschlechtsreife, quantitativ zu prüfen. Aus den Ergebnissen konnten keine grundsätzlich neuen Deutungen hinsichtlich der ungeklärten, unspezifischen Wirkungsweise für diese, auch in Therapie und Fütterung der Haustiere, sehr gebräuchlichen Stoffe gefunden werden.

Über 200 Ratten wurden für 17 Versuche, die sich in Bezug auf angewandte Vitamine, Zeitdauer und Dosierung der Wirkstoffe sowie der Grunddiät der Versuchstiere unterschieden, ausgewertet. Signifikante Progressionen, d.h. Vergrößerung der morphologisch faßbaren NNR-Kapazität, konnten lediglich bei provozierter Hypervitaminose D festgestellt werden, wobei - wie auch an anderer Stelle (10) auf Grund der Thymusinvolution sowie der Körpergewichtsabnahme interpretiert wurde - dieser Befund als Ausdruck eines allgemeinen unspezifischen Stress infolge der pathologischen Veränderungen bei der Hypervitaminose aufgefaßt werden kann. Die Vitamin D-Hypovitaminose zeigte sich in diesem Sinne dagegen bei den angestellten Mangelversuchen, bei denen allerdings das Wachstum keineswegs beeinträchtigt wurde, als nicht allgemein belastend. Bei den rachitischen Tieren waren Regressionen in der NNR erkennbar, die jedoch statistisch nicht gesichert werden konnten. Möglicherweise ist dieses Symptom im Zusammenhang mit der aus der Literatur bekannten (s. Kapitel 5) Schilddrüsenunterfunktion zu deuten.

Bei den Versuchen kam nur in einem Fall signifikant zum Ausdruck, daß durch Zulage der fettlöslichen Vitamine ein Mehrwachstum erzielt werden konnte, und zwar mit Vitamin A in einer Dosis von 300 E / Tier / Tag. Jedoch zeigte eine Parallelgruppe, die 10 000 E / Tier / Tag Vitamin A erhalten hatte, keinen Wachstumseffekt gegenüber den Kontrollen. Im Gegensatz zum Vitamin D war jedoch bei dieser "Hypervitaminose A" keine NNR-Stimulierung etwa als allgemeines Belastungssymptom sichtbar. Die anabole Vitamin A-Wirkung kam auch in einem anderen Wachstumsversuch, wenn auch statistisch nicht gesichert, in der Körpergewichtsentwicklung, interessanterweise aber auch in besserer Futterverwertung, zum Ausdruck. Die Bilder der NNR ließen jedoch noch keine Stimulierungen erkennen, wie sie z.B. in früheren Versuchen des hiesigen Instituts (9), (10) bei Aureomycinverabreichungen gefunden wurden. Quantitativ ist auch die anabole Wirkung bei den Daten dieser Versuche wenig

vergleichbar, da sich bei Anwendung des Chlortetrazyklins Vorteile in Wachstumszunahme und Futterverzehr um ein Mehrfaches deutlicher ausgeprägt haben.

Die Versuche mit Vitamin E ergaben keinerlei Anhaltspunkte, daß die angewandten Dosierungen innerhalb der Versuchszeiten die NNR beeinflußt haben. In dieser Hinsicht sind Rattenversuche von besonderem Interesse, da ja lediglich bei dieser Tierart die auch für praktische Zwecke viel diskutierten Beziehungen zwischen Vitamin E und Fertilität gut definiert werden konnten. Bekanntlich werden therapeutische Effekte, die angeblich auch bei Großtieren in der Sterilitätsbekämpfung durch Vitamin E erzielt werden, wobei niemals mit Sicherheit allgemeiner Vitamin E-Mangel nachgewiesen werden konnte, in pharmakodynamischer Beziehung interpretiert. Die geringe Beeinflußbarkeit der NN, wie sie sich bei den Ratten, die ebenfalls keinem spezifischen Vitamin E-Mangel unterlagen, nach unseren Kriterien zeigte, kann bei der Uneinheitlichkeit der bestehenden Auffassung nicht zu einer Klärung beitragen. Es dürfte der Wirkungsmodus des Vitamins E eher auf einem ubiquitären Effekt als auf einer bloßen ACTH-Stimulierung beruhen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurden in 17 Versuchen die fettlöslichen Vitamine A, D und E bei unterschiedlicher Dosis und Dauer im Hinblick auf ihre morphologische NNR-Wirkung, die karyometrisch ermittelt wurde, an über 200 Ratten untersucht.
2. Zulagen von Vitamin A zwischen 300 und 10 000 IE über 6 - 20 Tage zeigten keine signifikanten Ergebnisse. Es kamen jedoch bei bestimmten Gruppen Gewichtsmehrzunahmen und Futtereinsparung zum Ausdruck.
3. Vitamin D₃ hatte nur in Dosierungen, die pathologische Erscheinungen der Hypervitaminose erzeugen, histometrisch faßbare Änderungen der NNR-Kapazität, die als Ausdruck eines unspezifischen Stress zu deuten sind, zur Folge. Regressionen, die aber statistisch nicht gesichert werden konnten, waren bei rachitischen Tieren gegenüber solchen, die bei gleicher Grundration 1 IE Vitamin D₃ als tägliche Zulage erhalten hatten, wahrzunehmen.
4. Vitamin E-Verabreichungen zwischen 1,5 mg und 50 mg / kg Körpergewicht während 4 - 12 Tagen zeitigten keine signifikanten Effekte bei den ausgewerteten NN-Präparaten. Es wird die Ansicht vertreten, daß eine eventuelle pharmakodynamische Wirkung etwa in der Fertilitätstherapie nicht lediglich durch NNR-Stimulierung in der Funktionskette erklärt werden kann.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. STAUDINGER, HJ.: Angew. Chem. 64, 283 (1952)
2. SAYERS, G., SAYERS, M.A.: Federat. Proc. 5, 200 (1946)
3. SELYE, H., HOROVA, A.: 2nd Ann. Rep. on Stress 165 (1952)
4. BACHMANN, R., SCHARRER, E.B.: Handb. d. mikr. Anat. d. Menschen
Springerverlag, Heidelberg 1954
5. SAYERS, G., SAYERS, M.A.: Rec. Prog. in Horm. Res. 2, 816 (1948)
6. BAHNER, F.: 1. Freib. Sympos. S. 125, Springerverl.
Heidelberg 1953
7. TONUTTI, E.: Endokrin. 28, 1 (1951)
8. BOGUTH, W., LANGENDORFF, H.: Med. Welt 20, 408 (1951)
9. STÖCKL, R.: Diss. med. vet. München 1956
10. KARG, H.: Habil. Schrift München 1958
11. CAMA, H.R., GOODWIN, T.W.: Biochem. J. 45, 236 (1949)
12. LEHNARTZ, E.: Einführg. i. d. chem. Physiol. Sprin-
gerverlag Heidelberg 1952
13. WENDT, H.: Dtsch. med. Wschr. 1213 (1956)
14. SCHAFFRATH, J.: Diss. med. vet. München 1957
15. NIESAR, K.H.: Die Naturwissensch. 42, 13 (1955)
16. STEPP, W., KÜHNAU, J.,
SCHRÖDER, H.: D. Vit. u. ihre klin. Anwendg.
1, 35 (1952) Ferd. Enke Verl. Stuttg.
17. Borden's Rev. of Nutr. Res. 17, 2 (1956)
18. RODAHL, K., MOORE, T.: Biochem. J. 37, 166 (1943)
19. RODAHL, K.: J. Nutr. 41, 399 (1950)
20. SCHULTZ, H.: Diss. med. vet. München 1956
21. SCHULTZ, E.D.: Diss. med. vet. München 1958
22. SCHULZE, E., HUNDHAUSEN, G.: Naun. Schmidtberger's Arch. 192, 43 (1939)
23. SCHULZE, E.: Klin. Wschr. 1120, 1942, 2. A.
24. HEILMEYER, L.: Lehrb. d. spez. path. Physiol.
Fischer-Verlag Stuttgart. 1955
25. KÄPPELER, O.: Diss. med. vet. München 1957
26. MONEY, W.L., FAGER, J.,
LUCAS, V., RAWSON, R.W.: Endocrinology 51, 87 (1952)
27. WOLBACH, S.B., HEGSTED, D.M.: Arch. of Path. 55, 47 (1953)
28. DEANE, H.W., GREEP, R.O.: Endocrinology 41, 243 (1947)
29. STAUDINGER, R.: Probl. d. Hypoph. -Nebenn. -Syst.
I. Freib. Symp. Springerverl. Heid. 1953

30. DAVIES, A.W., MOORE, T.:
 31. POPPER, H., GREENBERG, R.:
 32. CAIN, A.J., HARRISON, R.G.:
 33. LOWE, I.S., MORTON, O.A.,
HARRISON, R.G.:
 34. WOLF, G., WAGLE, S.R., VAN
DYKE, R.A., JOHNSON, B.C.:
 35. GEBAUER, G. LYHS, G.:
 36. GRAB, W.:
 37. CARLSSON, A.:
 38. AMMON u. DIRSCHERL, L.:
 39. HUTYRA, MAREK, MANNINGER,
MOCSY.:
 - 40.
 41. STEENBOCK, H., HERTING, D.C.:
 42. PILAGGI, V.I., DE LUCA, H.F.:
 - CRAMER, I.W., STEENBOCK, H.:
 43. CAUSERET, J.:
 44. HOFFMANN, E.:
 45. NESENI, R., GASTMEIER, W.:
 46. NESENI, R., ALTENKIRCH, W.,
OTTO, W.:
 47. CARLSSON, A., LINDQUIST, B.:
 48. BRUNE, H., EGER, W.:
 49. GINOULHIAC, E.:
 50. POLEMANN, G., FROITZHEIM, G.:
 51. FROEHLICH, A.:
 52. FEULON, H., PAULAIS, R.:
 53. BURKL, W., FORMANEK, K.,
LINDNER, A.:
 54. RUZICKA, O.:
- Biochem. J. 47, 6 (1950)
Arch. Path. 32, 11 (1941)
I. Anat. 84, 196 (1950)
Nature London 172, 716 (1953)
I. Biol.Chem. 230, 979 (1958)
Vit. u. Horm. 7, 316 (1956)
Monatsschr.f.Kinderheilk. 101, 163
Acta Pharmacol and Toxicol 9,
32 (1953)
Ferm., Horm.u.Vit.
Thiemeverl. Leipzig (1948)
Spez.Pathol.d.Haustiere
Georg Fischer-Verl. Jena 1954
Chemisches Zentralblatt 1955, I
J.Nutr. Abstr. and Rev. 26, 634 (1956)
Arch. Bioch. Biophys. 60, 52
(1952)
C.R.Acad.Sci. 238, 160 (1954)
Diss.med.vet. Hannover 1956
Archiv f. Tierernährg. Beiheft 5,
234 (1954)
Archiv f. Tierernährg. 4, 258
(1954)
Acta Physiol.Scand. 35, 53 (1955)
in Nutr. Abst. Rev. 26, 633 (1956)
Arch.f. Tierernährg. 4, 221 (1954)
Acta Vitaminologica, Milano
i.Berichte ges.Physiol.u.Pharma-
col. 147, 251 (1951/52)
i.Ber. ges.Physiol.u.exp.Pharma-
col. 166, 216 (1954)
Arch.exp. Path.u.Pharmacol. 219,
512 (1953)
C.R.Soc. Biol. 147, 1775 (1953)
Sci.Pharm. 21, 296 (1953) in
I.Z.f.Vitaminf. 25, 343 (1954)
i.Ber. ges.Physiol.u.exp.Pharmac.
165, 37 (1954)

55. BRUNE, H., EGER, W.: Z. Arch. f. Tierernährg., Beiheft 5
Scheunert, Akad. Verl. Berlin 1954
56. BRONSCH, K.: Zbl. f. Vet. med. 3, 515 (1956)
57. HANSSLER, H.: Klin. Wschr. 646 (1956)
58. LARON, Z., CAULAS, B. D., Arch. Path. 61, 177 (1956)
CRAWFORD, I. D.:
59. TAGWERKER, F.: Kraftfutter, Monatsz. d. Futtermittel-
ind. 42, 3 (1959) Verl. Hannover
Die Pharmazie, 12, 265 (1957)
60. GEBAUER, G., ACKERMANN, H.,
TSCHAPKE, H.:
61. MARTIUS, C.: Horm. u. ihre Wirkungsweise, Sprin-
gerverlag Heidelberg 1955
62. "Literaturzusammenfassg. über Vit. E
i. d. Tierernährg.", Herausg.
Hoffmann - La Roche, Ag. Basel 1959
63. MOURIQUAND, G.: Rev. Path. Comp. 431, Juli 1959
64. BECKMANN, R.: Z. Vit., Horm., Fermentforschg. 7
Heft 2/3 und 4/5 (1955)
65. KAEMMERER, K.: Vet. med. Nachr. 4, 229 (1956)
66. BRÜGGEMANN, J., NIESAR, K. H.: Vit. u. Horm. 40, 9 (1957)
67. SCHWARZ, K.: Z. Physiol. Chem. 281, 106 (1944)
68. SCHWARZ, K.: Prov. Soc. Exp. Biol. Med. 80, 319
(1952)
69. SCHWARZ, K., FOLTZ, C. M.: J. Am. Chem. Soc. 79, 3292 (1957)
70. EGGERT, R. G., PATTERSON, E.,
AKERS, W. T., STOKSTAD, E. L. R.: I. I. Animal. Sci. 16, 1037 (1957)
71. DE WITT, W. B., SCHWARZ, K.: Experientia 14, 28 (1958)
72. SCOTT, M. L., BUTTERS, H. E., Poultry Sci. 36, 1155 (1957)
NESHEIM, M. C.:
73. DAM, H., SONDERGAARD, E.: Experientia 13, 494 (1957)
74. BRÜGGEMANN, J., NIESAR, K. H.: D T W, 61, 37/38 (1954)
75. HILL, H.: D T W, 57, 12 und 14 (1957)
76. RADICE, J. C., MUSMANNO, E.: Semana med. Buenos Aires 2, 75 (1955)
i. Ann. Bibliogr. of Vitamin E,
N. Y. 1955 - 57, Ref. Nr. 352
77. BRÜGGEMANN, J., NIESAR, K. H., T. U. 5, 143 (1957)
FLOEGEL, Chr., GRAF, R.:
78. HÜTER, F.: Z. Naturforschg. 2b, 414 (1947)
79. LINDNER, E.: i. Ann. Bibliogr. of Vitamin E, N. Y.
1955 - 57, Ref. Nr. 480

80. BRÜGGEMANN, J., NIESAR, K.H.: Vit.u.Horm. 7, 10 (1956)
81. BRENCIS, K.: i. Ann. Bibliogr. of Vitamin E, N. Y.
1955 - 57, Ref. Nr. 623
82. V. MASSENBACH, W., STADTMÜLLER, A.: Zbl. f. Gynäkol. 74, 25 (1952)
83. RAFFY, A.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 1253
84. BOTTIGLIONE, E.,
STURANI, P.L.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 360 u. 636
85. FERRARIS, G. M., PANSA, E.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 735
86. TONUTTI, E.: Z. Vitaminf. 13, 1/2, (1943)
87. HIISI - BRUMMER, L.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 627
88. SCHRAMM, W.: Diss. med. vet. München 1958
89. GROS, H.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 1081
90. EVOLI, M.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 367
91. HEINSEN, H. A., KÖKER, H.: Dtsch. med. Wschr. 76, 487 (1951)
92. HEINSEN, H. A., SCHEFFLER, H.: Med. Klin. 909 (1951)
93. PROSPERI, R., BORSELLI, L.: i. Ann. Bibliogr. of Vit. E, N. Y.
1955/57, Ref. Nr. 769
94. BENNET, A.: Amer. J. Physiol. 150, 400 (1952)
95. KARG, H.: Vit. u. Horm. 7, 389 (1957)
96. TONUTTI, E.: Z. f. mikr. anat. F. 51, 346 (1942)
97. TONUTTI, E.: Persönliche Mitteilungen
98. ROMEIS, B.: Mikroskop. Techn. (1948),
Leibn.-Verlag, München
99. OTTO, E.: Biometrie Dtsch. Bauernverlag,
DDR 1958
100. VAN DER WAERDEN, B.L.: Mathematische Statistik, Bd. 87,
Springerverl. Heidelberg
101. KARG, H.: Diss. med. vet. München 1953

Für die Überlassung des Themas und die großzügige Unterstützung meiner Arbeit erlaube ich mir Herrn Professor Dr. Dr. Johs. Brüggemann meinen ergebenen Dank auszusprechen.

Herrn Privatdozent Dr. Heinrich Karg bin ich für die laufend erhaltenen Hinweise und stets gewährten Diskussionen zu Dank verpflichtet.

L E B E N S L A U F

Am 25. April 1920 zu München als Sohn des Studienprofessors Dr. phil. Peter Maurus und seiner Ehefrau Anna, geb. Gömmel, geboren, besuchte ich von 1926 - 1930 die Volksschule, im Anschluß daran das Alte Realgymnasium zu München, das ich 1938 mit dem Reifezeugnis verließ.

1938 rückte ich zum Reichsarbeitsdienst und zur Wehrmacht ein und kehrte im November 1949 aus sowjetischer Kriegsgefangenschaft zurück.

Nach mehrjähriger Tätigkeit als selbständiger Molkereikaufmann begann ich 1954 das Studium der Tiermedizin in München und brachte es mit Ablegung der tierärztlichen Prüfung am 27. Januar 1959 zum Abschluß.

Die Dissertation begann ich im Juli 1956 und vollendete sie im Mai 1959.

